MEDEDEELINGEN

UIT

'S LANDS PLANTENTUIN

IX.

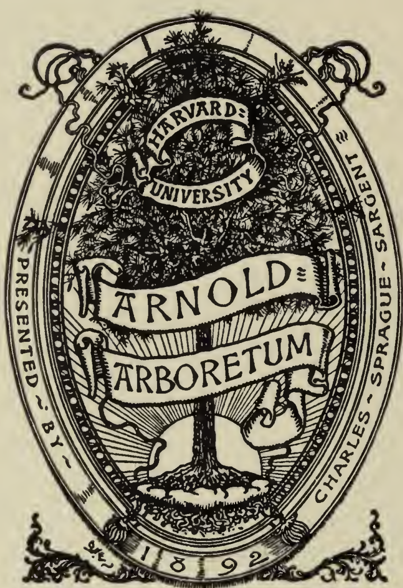
HET VOORKOMEN VAN BACTERIEN IN SUIKERRIET

DOOR

DR. J. M. JANSE,
CHEF DER IIe AFDEELING VAN 'SLANDS PLANTENTUIN.

MET 1 PLAAT.

BATAVIA
LANDSDRUKKERIJ
1891.


HARVARD UNIVERSITY
ARNOLD ARBORETUM
PRESENTED ~ BY ~ CHARLES ~ SPRAGUE ~ SARGENT
1892

MEDEDEELINGEN

UIT

Buitenzorg

'S LANDS PLANTENTUIN

IX.

HET VOORKOMEN VAN BACTERIEN IN SUIKERRIET

DOOR

Dr. J. M. JANSE,
CHEF DER IIe AFDEELING VAN 'SLANDS PLANTENTUIN.

MET 1 PLAAT.

BATAVIA
LANDSDRUKKERIJ
1891.

HET VOORKOMEN VAN BACTERIEN IN SUIKERRIET.

Voor eenige maanden verscheen n°. VIII van deze Mededeelingen, ook als bijvoegsel der Javasche Courant van 16 Januari 1891 n°. 5, bevattende een opstel van mijne hand hetwelk ten doel had eene proeve te geven eener verklaring van sereh-verschijnselen bij het suikerriet. Uit de daarin besproken proeven bleek dat het onderzoek der sereh-ziekte in verschillende onderdeelen moest vervallen, wier volledige studie veel tijd zou vorderen. Vooral om deze laatste reden werd dan ook tot de publicatie van bedoeld opstel overgegaan, doch met het vaste plan de volgende mededeeling eerst na afloop van het onderzoek van al de onderdeelen te geven.

Dat desniettegenstaande reeds nu deze tweede mededeeling verschijnt, waarin slechts één dier onderdeelen besproken wordt, terwijl zelfs de onderzoekingen over dit deel nog niet afgeloopen zijn is dan ook slechts aan eene bizondere omstandigheid toe te schrijven.

Door de Directie van het Proefstation te Pasoeroean werd nl. voor eenigen tijd het verzoek aan ons gericht om aan Dr. Valeton, bacterioloog aan genoemd Proefstation, bij zijn bezoek aan Buitenzorg de gewenschte inlichtingen te willen verschaffen omtrent de alhier gebezigde methoden van onderzoek.

Van onze zijde werd aan dit verzoek volgaarne gevolg gegeven en daarna het plan gevormd om door samenwerking met het Proefstation te Pasoeroean te trachten den gang van het onderzoek der sereh-ziekte te bespoedigen.

Aangezien echter eene gezamenlijke publicatie der te Pasoeroean en te Buitenzorg te verkrijgen resultaten niet goed mogelijk is, zag ik mij nu genoodzaakt zelf mijne methode van onderzoek en hetgeen deze mij tot nu toe geleerd heeft openbaar te maken, ten einde geen belemmering te veroorzaken bij de publicatie der eerlang te Pasoeroean met die methode te verkrijgen resultaten. Dit moge dan ook de spoedige verschijning van deze tweede Mededeeling verklaren en tevens verontschuldigen.

I.

Dit opstel bepaalt zich uitsluitend tot de bespreking van proeven omtrent het voorkomen van bacterien in suikerriet en van enkele punten welke daarmede in onmiddelijk verband staan.

In de vorige mededeeling werd er reeds opgewezen dat het aldaar medegedeelde omtrent de cultuur van bacterien uit suikerriet slechts een zeer voorloopig karakter kon dragen, daar de bacteriologische apparaten, hoewel in het laboratorium aanwezig, nog niet in gebruik konden genomen worden.

Nadat dit echter einde December van het vorige jaar geschieden kon, doordat toen de gasinstallatie gereed kwam, heb ik onmiddelijk het bacteriologisch gedeelte van het onderzoek der sereh-ziekte ter hand genomen.

De uitkomsten der waarnemingen en proeven in mijn vorig opstel vermeld, gaven mij aanleiding te vermoeden dat bij de verschijnselen dezer ziekte de bacterien een gewichtige rol spelen.

De vraag welke nu het eerst voor de hand lag was dus deze: Komen er bacterien voor in versch gesneden riet? een vraag waaromtrent in de vorige mededeelingen nagenoeg alléén uitkomsten van mikroskopisch onderzoek konden vermeld worden.

Ik heb nu getracht deze uitkomsten te bevestigen, en wel door te beproeven de in het riet voorkomende bacterien zich op andere voedingsbodems vrij te doen ontwikkelen.

Het komt er dus eerst op aan de levende bacterien uit het riet te verkrijgen.

Men zou dit kunnen doen, door bijvoorbeeld een stukje van het vroeger besproken slijm dat in de vaten aangetroffen was en dat de bacterien bevat, uit deze vrij te præpareeren en op den eenen of anderen kunstmatigen voedingsbodem over te brengen.

De kans dat met het slijm ook tegelijk andere bacterien, uit de lucht bv., op den voedingsbodem geraken, waardoor de cultuur meer dan één bacteriesoort zou bevatten en dus niet zuiver, niet rein zou zijn (men spreekt daarom ook van *reinculturen* wanneer slechts één soort bacterie in een cultuur voorhanden is), maakte dat het mij beter toescheen naar eene andere wijze van bewerking uit te zien, waarbij met minder voorzorgen tevens meer algemeene resultaten verkregen konden worden.

De hiertoe door mij veelal gebezigde methode is de volgende:

Nadat de te onderzoeken rietstok uitwendig met zorg gereinigd is, (waarvoor men een oplossing van 0.1% sublimaat of ook zuiver regenwater gebruikt) worden de knoopen van den stok er uit genomen, door 1—1½ cM. onder en boven den knoop de stok dwars door te snijden. De uitvallende internodien worden verder niet gebruikt. Elk der overige stukken bevat dus één geheelen knoop en is 2—3 cM. hoog.

Door een schuine snede worden nu alle deze stukken door midden gesneden, zoodat aan elke helft een halve knoop komt. De twee helften van elke knoop zijn dan volkomen met elkander vergelijkbaar, d.w.z. men mag aannemen, dat datgene wat men later onder bepaalde omstandigheden aan de eene helft waarneemt, men onder dezelfde omstandigheden ook aan de andere helft zou hebben kunnen opmerken.

De eene helften worden bij de gewone bactериencultuur dan ook alleen gebruikt, doch bij andere proeven, zooals er later ook nog besproken zullen worden, vormen de andere helften het materiaal voor de contrôle-proeven of ook voor mikroskopisch onderzoek. Voorloopig gebruiken wij dus slechts de eene helften, dus 1 stuk van elken knoop.

Deze stukken worden nu alle te zamen gebracht in een ketel of pan met goed kokend, zuiver regenwater. Het is voldoende de stukken daarin 10 minuten te laten (terwijl het water flink moet blijven doorkoken) maar een langer verblijf, zelfs tot ½ uur schaadt aan de

uitkomst van de proef niet. Na verloop van dien tijd worden de stukken een voor een met een gesteriliseerd ([1]) tangetje of pincet in een gesteriliseerde glazen schaal geplaatst (met de schuine sneevlakte naar boven of ook op de ronde kant) welke met een eveneens gesteriliseerde glazen plaat gedekt en daarna op een stofvrije plaats weggezet wordt.

Het is aan te bevelen de stukken na het uitnemen uit het kokende water niet onmiddelijk in de schaal te plaatsen maar even te wachten tot het aanhangende water verdampt is; dit levert gemak op bij de verdere waarnemingen.

Komen in een der zoo behandelde knoopen bacterien voor, zoo bemerkt men dit voor het eerst 1 tot 2 dagen later, en wel aan het optreden van een of meestal van meerdere, voorloopig zeer kleine, heldere druppeltjes die zich op de sneevlakte vertoonen.

Raakt men een dier druppeltjes, met een gesteriliseerde platinanaald aan zoo ziet men dat gene uit een vrij dik slijm bestaan dat veelal tot een draad uitgetrokken wordt wanneer men de naald weder verwijdert.

Wacht men nu verder af dan ziet men dat allengs alle druppeltjes grooter worden, naburige druppels naderen tot elkander en vloeien eindelijk samen, en zoo ontstaat er dikwijls gaandeweg, in den loop van 2 à 3 dagen een aanzienlijke slijmmassa, die somtijds langs de schuine kant van het stuk naar beneden vloeit.

Onderzoekt men dit slijm mikroskopisch zoo blijkt het uitsluitend te bestaan uit bacterien, d.w.z. elke bacterie omgeven met het haar toebehoorende slijmhulsel. Alvorens wij deze organismen bespreken, moeten wij echter eerst nog verder de eigenaardigheden van de slijmontwikkeling nagaan.

([1]) Gesteriliseerd noemt men elk voorwerp of elke vloeistof waaraan of waarin zich geen *levende* kiemen van planten of dieren (meer bepaald van bacterien) bevinden. De voorwerpen worden daartoe eerst gereinigd en vervolgens zóó behandeld, dat men zeker is dat na die behandeling alle kiemen dood moeten zijn.

De methode is voor de verschillende voorwerpen zeer verschillend. Metalen voorwerpen worden zoo mogelijk in de vlam gegloeid of anders evenals glaswerk gedurende eenige uren verhit op 150°—180° C. Vloeistoffen worden hetzij eenige uren bij 100° gehouden of, nog beter, in de zoogen. autoclave van Pasteur (een soort stoomketeltje) gedurende $^1/_4$ tot $^1/_2$ uur verhit, op 120° C. waarbij dus de spanning der waterdamp tot 2 atmospheren stijgt.

Tegelijk met de slijmontwikkeling neemt men een eerst zwak, daarna steeds sterker wordende, onaangenaam zure reuk waar wanneer men de schaal voorzichtig een weinig opent. Deze reuk wordt zeer waarschijnlijk veroorzaakt door een stof, mogelijk boterzuur of een daarmede verwante verbinding, welke door de werking der bacterien uit de in het stuk riet aanwezige suiker ontstaat.

Daar het nu een bijna algemeene eigenschap der bacterien is dat zij in een zure omgeving slecht kunnen leven, maakt het zuur dat door de bacterien gevormd wordt, voor henzelven langzamerhand den voedingsbodem meer en meer ongeschikt voor verdere ontwikkeling, en tengevolge daarvan houdt de vermenigvuldiging der bacterien op terwijl tegelijk daarmede de sporen-vorming begint. Deze sporen worden door de ongunstige omgeving volstrekt niet geschaad, maar blijven eenvoudig, somtijds zeer lang achtereen, onveranderd totdat de eene of andere oorzaak hen in gunstiger voedingsomstandigheden brengt en dan groeien zij wederom tot den gewonen staafjesvorm uit.

Met de sporenvorming, en wel tengevolge van deze, begint het uiterlijk van het slijm op de rietstukken iets te veranderen, doordat het allengs een witachtige tint aanneemt en ten slotte geheel wit of grijsachtig wordt. Bovendien neemt het volume van het slijm af, zoodat het schijnt in te drogen terwijl zich op de oppervlakte rimpels vertoonen. De oorzaak van dit laatste bestaat daarin dat wel de bacterien doch niet de sporen met een dik slijmhulsel omgeven zijn; bij de sporevorming wordt dus het slijm vrij van de bacterien en verdwijnt op de eene of andere wijze.

Het versche slijm of de daaruit ontstane sporen kan men nu gebruiken om cultures dezer bacterien te maken op elke willekeurige voedingsbodem, zooals wij er later (p. 18) nog zullen bespreken.

Veelal ontwikkelt zich ook slijm aan de onderzijde der stukken riet in de schalen, hetwelk bij verdere ontwikkeling spoedig de geheele ruimte tusschen rietstuk en schaal aanvult. Een enkele maal meende ik in dit slijm gas- of luchtbellen waar te nemen, een verschijnsel dat op mogelijk plaats hebbende gisting schijnt te duiden. Of dit werkelijk het geval was en onder welke omstandigheden een dergelijke gisting optreedt wordt nader onderzocht.

Wanneer men de schalen, waarin zich de behandelde stukken riet bevinden, voortdurend gesloten laat, of ze, wanneer het noodig is, met groote voorzichtigheid even opent door de glasplaat aan een zijde een weinig op te lichten, zoo komt het nooit voor dat de cultuur der gewenschte bacterien door andere soorten verstoord wordt. Slechts éénmaal heeft een vreemde bacterie een van de zeer talrijke cultures verontreinigd, doch daarbij waren om later te vermelden redenen de rietstukken op andere, minder afdoende wijze behandeld dan boven beschreven werd. Door verdere kweeking op andere voedingsbodems bleek ook spoedig dat men hier met een vreemde soort te doen had en nadat dit geconstateerd was werden alle cultures van den verontreiniger volkomen gedood ten einde van dezen voor goed bevrijd te zijn. In latere cultures kwam dan ook noch deze, noch een andere vreemde bacterie ooit weder te voorschijn.

De reden waarom mijne cultures nooit verontreinigd waren, veel minder dan dit misschien bij dezelfde wijze van behandeling op andere plaatsen het geval zou zijn, hangt zeer waarschijnlijk samen met het bijna volkomen gebrek aan stof te Buitenzorg tengevolge van de meestal dagelijksche regens welke de lucht zuiveren van de gewoonlijk daarin voorkomende kiemen van bacterien en van andere levende wezens.

Niet zelden komt het echter voor dat ten slotte schimmels de cultures komen verontreinigen; verstoren doen zij de proef echter nooit en wel, eerstens: omdat zij op zijn vroegst optreden drie of vier dagen nadat de rietstukken gereed gemaakt waren, terwijl de slijmontwikkeling, zooals gezegd werd, veelal reeds na 24 uur begint zichtbaar te worden; ten tweede omdat er nooit eenige vergissing mogelijk is, zelfs niet bij beschouwing met het bloote oog, tusschen de schimmeldraden en het bacterienslijm, terwijl men ten derde de stukken van de schimmels gemakkelijk kan bevrijden door elk begin van schimmelvorming onmiddellijk met een gloeienden koperdraad uit te branden.

Bij het gereed maken van de stukken riet voor de cultures heb ik ze steeds in regenwater gekookt, zonder dit vooraf aan eenige zuivering te onderwerpen. De uitkomsten mijner proeven gaven mij geen aanleiding om daaromtrent voorzorgen te nemen, en daarom nam ik

deze ook niet, omdat ik de meest eenvoudige cultuurmethode wenschte te leeren kennen.

De vraag is echter gewettigd, of het bacterien-slijm dat men op de rietstukken ziet optreden, toch niet afkomstig kan zijn van bacterien welke mogelijk in het regenwater of in de lucht voorkwamen. Dit zou des te eerder mogelijk zijn omdat de sporen van alle bacterien voorzeker wel bestand zijn tegen een verblijf gedurende 10 minuten tot een halfuur in kokend water.

Wel meende ik uit tal van bizonderheden bij de verschillende cultures waargenomen, te mogen afleiden dat van een dergelijke verontreiniging moeielijk sprake kon zijn, maar ten einde omtrent dit punt geen twijfel over te laten, heb ik volgende proeven genomen.

In de eerste plaats werd dan het regenwater zelf onderzocht op het voorkomen van bacterien.

Daartoe werd in een glazen schaal gebracht een laag agar-gelatine, welke tevens de voor de bacterien noodzakelijke voedingsstoffen bevatte; de schaal werd gesloten en het geheel daarna in de autoclave (zie noot ([1]) p. 4) gedurende 15′ op 120° gehouden.

Toen nu bleek dat zich later daarop geen bacterien ontwikkelden, en het geheel dus voldoende gesteriliseerd was, werd op die laag gebracht 10 cM^3 van het regenwater.

Na twee dagen waren ook nu nog geen bacterien te zien, doch daarna traden vele kleine kolonies op, welke later maar weinig groeiden. In deze kolonies was slechts één bacterien-vorm te ontdekken, kleiner dan die uit het slijm van de rietstukken, terwijl zij zich op aardappel ook anders ontwikkelde dan deze.

In de tweede plaats dan werden de rietstukken gekookt in het gewone regenwater, doch nadat dit vooraf gesteriliseerd was.

De proef was dus als volgt ingericht:

In de autoclave werd het gewone regenwater gedurende een half uur op 120° C. verwarmd gehouden; onder deze omstandigheden moesten alle kiemen van levende wezens gedood zijn, zooals herhaaldelijk door de meest verschillende onderzoekers geconstateerd kon worden en ook mij door speciale proeven gebleken was. Na verloop

van het half uur liet ik het water afkoelen tot kooktemperatuur (1), opende de autoclave en bracht nu de stukken in dit gesteriliseerde water, hetwelk ik met geopende aflaatkraan liet koken. Na 10 minuten werden de stukken er uitgenomen en als gewoon verder behandeld.

Het resultaat leverde niet de minste afwijking op van die der andere cultures, terwijl ook herhalingen van deze proef steeds hetzelfde resultaat gaven.

Bij een dezer proeven werd onmiddelijk vóór het inbrengen en eveneens onmiddelijk vóór het uitnemen der rietstukken uit het water, 1 cM^3 daarvan gebracht in een buisje met een schuine laag gestolde agar-gelatine (als boven). In geen der beide buisjes trad bacterien ontwikkeling op, zoodat daaruit volgde:

1°. dat het water bij het inbrengen der stukken voldoende gesteriliseerd was, en

2°. dat er van uit de ingebrachte stukken riet geen bacterien in het water overgegaan waren. Dit laatste is van belang omdat het aantoont dat het eene stuk riet niet door het andere geinfecteerd wordt gedurende het koken.

Nog andere methoden, welke door mij beproefd werden en waarbij de rietstukken in het geheel niet met water in aanraking kwamen, gaven ook weder het gewone resultaat en leveren dus bewijzen te meer dat de slijmontwikkeling niet door bacterien uit het regenwater afkomstig kon veroorzaakt worden.

Zoo werden de versch met een gesteriliseerd mes gesneden rietstukken in een gesteriliseerde schaal gebracht en deze, met de glazen plaat gesloten, in het sterilisatie-apparaat van Koch geplaatst waarin zij gedurende een half uur aan de inwerking van stroomende waterdamp (van 98.°5 C) blootgesteld waren. Na 24 uur begon steeds het gewone bacterienslijm zichtbaar te worden.

Andere versche stukken heb ik in een gesteriliseerde schaal geplaatst en deze gedurende 4 uur op een temperatuur van ongeveer 70° verhit. Het resultaat was niet anders dan gewoonlijk.

Eindelijk kan men de stukken zonder ze te verwarmen in de schaal

(1) Deze bedraagt voor Buitenzorg, wegens hare ligging op een hoogte van 265 M. boven de oppervlakte der zee, slechts 99° C. in plaats van 100° C.

plaatsen, doch om dan de kans op verontreiniging weg te nemen is het raadzaam de stukken òf van buiten in de vlam te steriliseeren, dus zoogen. te flambeeren, òf ook van elk stuk den bast te verwijderen, daar de verontreinigingen van de buitenoppervlakte afkomstig zijn. In de beide laatste gevallen ziet men niet zelden dat de slijmontwikkeling minder aanzienlijk is dan bij eene andere wijze van behandeling hetgeen met veranderde voedingsomstandigheden der bacterien samenhangt (zie later p. 24). Hoofdzaak is hier dat ook op deze wijze behandeld, de slijmvorming niet uitblijft. Het was bij een der (dus niet voldoende) geflambeerde stukken, dat de verontreinigende, vreemde bacterie-soort optrad, waarover p. 6 gesproken werd.

Zijn dus de bacterien welke de slijmvorming veroorzaken niet afkomstig uit het water waarin de stukken gekookt werden, zoo blijft nu nog de mogelijkheid bestaan dat deze misschien van uit de lucht geinfecteerd worden.

Dat dit echter evenmin het geval is heb ik getracht op de volgende wijze aan te toonen:

Van een stok *T. Poetih* 3 (2^e generatie) werden 10 knoopen uitgesneden, en elk van deze eerst door een schuine, en daarna nog eens door een overlangsche snede in vier deelen verdeeld; 20 van die stukken (van elke knoop 2) werden daarna op de gewone wijze gedurende 20′ in water gekookt en de andere 20 gedurende 15′ in het water van de antoclave op 120° verwarmd. Deze 40 stukken werden nu over drie schalen verdeeld, in elke schaal evenveel stukken welke tot 100° als die tot 120° verwarmd waren; zij waren daarin door elkander geplaatst, doch zonder elkander aan te raken (elk der stukken welke tot 100° verwarmd werden, was vooraf gemerkt, zoodat deze ten allen tijde te herkennen waren).

De eene schaal werd nu als gewoon met een glazen plaat bedekt, de tweede daarentegen open neergezet naast de eerste in een glazen kastje, bestemd voor de bewaring der cultures. De derde schaal eindelijk stond op een glazen plaat waaroverheen een groote glazen stolp, welke boven een groote opening bezat, over welke laatste gaas gespannen was, om de mieren af te houden. Deze schaal met stolp stond vrij op de tafel in het laboratorium.

Was er bij de slijmontwikkeling infectie door de lucht in het spel, zoo moest het slijm zoowel verschijnen op de tot 100°, als op de tot 120° verwarmde stukken; verscheen het slijm daarentegen slechts op die welke tot 100° verhit waren, zoo mocht men daaruit omgekeerd besluiten dat de infectie door de lucht niet plaats heeft.

Er werd nu van tijd tot tijd waargenomen of er duidelijk slijm opgetreden was op de stukken; hiervan werd dan aanteekening gehouden, maar tevens die stukken uit de schalen verwijderd, ten einde infectie van het eene stuk op het andere te vermijden.

Tegelijk met den stok *T. Poetih* **3**, werd geheel op dezelfde wijze een stok van *T. Tjeribon* **3** (eveneens 2e generatie) gereed gemaakt en die met de stukken van *T. Poetih* in dezelfde schalen geplaatst. Van beide stokken te zamen waren 38 stukken verwarmd tot 100° en 38 tot 120°.

Na 27 uur vertoonden reeds 32 van de tot 100° verwarmde stukken slijm, terwijl van de stukken, tot 120° verwarmd, nog geen enkele slijmdruppel deed zien; alle schalen leverden dus hetzelfde resultaat op.

Na 44 uur was op alle tot 100° verwarmde stukken slijm opgetreden, terwijl van de overigen (120°) geen enkel slijm vertoonde.

Nu werd in elke schaal 1 der stukken van 120° ingeënt, allen van éénzelfde stuk van 100°.

Den volgenden dag was de slijmontwikkeling op deze 3 stukken begonnen, doch nu traden ook eerst op 2 en daarna nog op 4 der andere stukken van 120° kleine slijmdruppels op. Op de overige 32 stukken was echter zelfs na 10 dagen nog geen slijm te bespeuren.

Daar dit laatste resultaat waarschijnlijk toe te schrijven was door dat niet alle stukken door 15′ verblijf bij 120° voldoende gesteriliseerd waren, werd de proef herhaald waarbij nu echter 10 stukken gedurende $^1/_2$ uur gehouden werden bij 120° en de 10 contrôle-stukken gedurende 20′ in kokend water, terwijl de schaal waarin deze 20 stukken te samen geplaatst werden, als boven door den stolp met gaas bedekt in het laboratorium op tafel stond.

Na 26 uur vertoonden alle stukken van 100° duidelijke slijmvorming, terwijl deze op die van 120° geheel ontbrak. Eerst na 2 dagen kwam op een der laatstgenoemden één druppeltje slijm voor den dag.

Voor dit éene stuk, en wel voor die zeer enkele bacterien die zich later ontwikkelden, was dus $^1/_2$ uur verblijf bij 120° nog onvoldoende geweest om alle kiemen te dooden.

Een derde proef werd daarom genomen, waarbij 20 stukken, te samen afkomstig van 10 knoopen van éénzelfden stok gebruikt werden; 10 bleven gedurende $^3/_4$ uur bij 120°, terwijl de 10 andere daarin in hetzelfde water gedurende 20′ gekookt werden.

Daarna in open schalen onder glazen stolpen met gaas geplaatst, vertoonden alle 20 stukken van 100° reeds na 48 uur slijm, terwijl op geen der stukken van 120° zelfs na 4 dagen iets te zien was.

Uit deze proeven blijkt dus overtuigend dat infectie van uit de lucht bij de slijmontwikkeling op de rietstukken volstrekt geen rol speelt, vooral omdat de slijmontwikkeling op de ingeënte stukken van 120° welke steriel gebleven waren, aantoont dat deze stukken toch zeer goed tot slijmvorming aanleiding kunnen geven, wanneer er maar levende bacterien aanwezig zijn.

II.

Nu wij gezien hebben hoe men de besproken bacterie uit het riet kan kweeken, wordt het tijd onze aandacht aan dit organisme zelf te wijden. Dit is des te meer noodzakelijk omdat in mijne vorige mededeeling daaromtrent slechts zeer onvolledige gegevens konden verschaft worden.

Bacillus Sacchari was de naam welke ik toen voorloopig aan onze bacterie gegeven had, en ik heb bij verder onderzoek geen aanleiding gevonden dezen naam te wijzigen.

In het slijm komt zij steeds voor als staafjes wier dikte slechts wisselt tusschen 0.6 en 0.8 mikron (1), doch wier lengte niet onaanzienlijk varieert naar gelang van den voedingsbodem waarop men ze kweekt.

---

(1) 1 *mikron* (ook wel voorgesteld door de letter *m* uit het Grieksche alphabet) = 0.001 mM. Deze is de algemeen gebruikte maat voor mikroskopische voorwerpen.

Waarschijnlijk tengevolge van eene vergissing bij het omrekenen zijn de beide getallen, in mijne eerste Mededeeling op p. 24 (regel 17 en 18 van boven) vermeld, tweemaal te klein opgegeven, zoodat die moeten zijn resp. 0.0006 en 0.0005 mM. dus gelijk aan 0.6 en 0.5 mikron.

In het slijm dat op de stukken riet te voorschijn komt bedraagt de lengte bijna altijd ongeveer 2.5 mikron en dezelfde lengte behouden ze wanneer men ze op gesteriliseerd riet overent ([1]) (fig. 1). In minder gunstige voedingsomstandigheden, zooals op agar-bouillon neemt de lengte een weinig af, tot 2.0 mikron, terwijl de dikte nagenoeg onveranderd blijft. In gunstiger condities daarentegen neemt de lengte van een aantal der staafjes zeer toe maar altijd vindt men er tevens vele die de gewone lengte behouden hebben. In gelatine-bouillon bedraagt de lengte tot 3.0 mikron, in gelatine-suiker-bouillon neemt de lengte tot 6.5 en zelfs tot 9.0 mikron toe, en op gesteriliseerde aardappelschijfjes bedroeg zij van 2.5 tot 8 mikron.

Een enkele maal zag ik op rietstukken welke op een der boven beschreven wijzen toebereid waren bacterien optreden welke veel langer waren, zelfs tot 45 mikron toe, daarbij gebogen waren en zelfs lussen vormden (fig. 5); de dikte was wederom onveranderd, en bij overenten van deze bacterien op een gesteriliseerd schijfje aardappel (zie later p. 20 en volgg.) verkreeg ik weder de gewone, veel kortere vorm terug, een aanwijzing te meer dus dat men hier niet met een andere soort bacterie te doen had.

Deze veranderlijkheid van de lengte der staafjes bij constant blijven van de breedte bij deze bacterien is niets bizonders, daar dit ook door vroegere onderzoekers bij vele andere soorten gevonden waargenomen werd.

In oude cultures treft men niet zelden bacterien van geheel veranderden vorm aan; zij zijn dan onregelmatig gezwollen en zouden bijna onherkenbaar zijn wanneer er niet tevens tal van overgangen voorkwamen tusschen deze en de gewone staafjes. Dit zelfde verschijnsel is ook voor een aantal andere bacterien bekend, en deze eigenaardig gevormde staafjes worden tot de »Involutionsformen" gerekend, omdat zij onder abnormale omstandigheden ontstaan en wel in staafjes welke geen sporen vormen.

Ten einde te doen zien dat de bacterien, welke door mij in de

([1]) Alle de hier aangehaalde cultures zullen later (p. 18 en volg.) uitvoeriger besproken worden.

vaten van den met filtratie onderzochten stok tuinriet aangetroffen waren (zie vorige Mededeeling p. 26) heb ik op de bijgaande plaat afgebeeld in fig. 8 twee ringvaten van een overlangsche doorsnede door internodium n°. 2 van dien stok, en in fig. 9 een hofstippelvat uit een dwarsche doorsnede van hetzelfde internodium.

In fig. 8 ziet men bij en tusschen de ringen der (versmolten) ringvaten tal van vrije bacterien, die echter wegens hunne onveranderlijke ligging in een slijmachtige massa moeten gelegen zijn. Deze laatste kon ik echter niet waarnemen. Bovendien vindt men aan den bovensten ring een kolonie van dicht bij elkander liggende bacterien met weinig slijm.

In fig. 9 is een eigenaardig geval afgebeeld waarin het bacterienslijm een overlangsche plaat vormt, welke juist door de as van het vat gaat. Beide figuren zijn geteekend bij 350-malige vergrooting. Ten einde de afmetingen der hier voorkomende bacterien te kunnen vergelijken met die van fig. 1—5 en 10—13, heb ik in fig. 10 enkele der staafjes uit fig. 9 eveneens bij eene vergrooting van 830-maal geteekend, en hieruit ontwaart men dat de in de vaten gevonden bacterien in afmetingen geheel met de *Bac. Sacchari* uit de cultures overeenkomen.

Boven werd er reeds op gewezen dat de consistentie van het versche slijm dat men op de rietstukken ziet te voorschijn komen, eenigszins wisselend is (waarschijnlijk afhangende van het water-, zoowel als van het suikergehalte van het stuk riet), veelal kan men het slijm echter tot draden uittrekken wanneer men het aanraakt.

Ten einde eenig inzicht te verkrijgen omtrent de samenstelling van dit slijm heb ik in één geval zijn gehalte aan water en aan bacterien bepaald. In dit geval was het slijm nog niet zoo dik dat men het tot draden kon trekken.

Het watergehalte werd bepaald op ongeveer 80 %, zoodat er 20 % overbleef voor het watervrije slijm en voor de bacterien.

In 1 mM^3 slijm bleken aanwezig te zijn 220.000 bacterien, wier totaal volume berekend werd op 0.000088 mM^3 of 88.000 kub. mikron.

Uit deze getallen volgt dat het volume der bacterien in het slijm met 80 % water staat tot het volume van het slijm als 1 : 11400,

zoodat dus elk staafje gedurende zijn ontwikkeling, die mogelijk 1 of een paar uur duurt, zijn 11400-voudig volume aan slijm bereidt en wel natuurlijk ten koste van de suiker die het uit de omgeving opneemt. Berekent men hieruit hoe dik de slijmlaag is die elke bacterie omgeeft, zoo vindt men daarvoor dat die laag rondom een dikte heeft van 22 ½ maal de halve diameter van het staafje. Onder deze omstandigheden bevat het slijm 80% water; aan watervrij slijm maakt dus elke bacterie ⅕ van 11400 of ongeveer 2200 maal haar volume, en die slijmlaag heeft dan een dikte van 13 maal haar halve diameter.

Wanneer men naar die verhoudingen eenige bacterien teekent met hunne slijmlagen, zoodat deze elkander aanraken (zooals in nevenstaande figuur) dan verkrijgt men een duidelijke voorstelling hoever ongeveer de bacterien in het slijm uit elkander liggen en hoe gering hun aantal eigenlijk in een bepaald volume is, niettegenstaande er, zooals wij zagen, per 1 mM³ 220.000 staafjes in slijm met 80 % water, en dus 1.100.000 in watervrij slijm voorkomen.



a



b

Staafjes van *Bac. Sacchari* in onderlinge ligging in het slijm; vergrooting ongeveer 500 ×.
a. in slijm met een watergehalte van 80%.
b. in watervrij slijm.

Er werd boven (p. 5) reeds medegedeeld dat 2 of meer dagen na het begin van de cultuur der rietstukken in het inmiddels opgetreden slijm de bacterien beginnen sporen te vormen. Ik had er in de vorige mededeeling reeds opgewezen dat de sporevorming in het inwendige der staafjes plaats had en dat onze bacterie daarom volgens de nomenclatuur van de Bary tot het geslacht *Bacillus* gerekend moest worden.

Hueppe (¹) verdeelt het geslacht *Bacillus* van de Bary in twee anderen, nl. *Bacillus* en *Clostridium* naar gelang van het niet of wel optreden van eene vormverandering der staafjes bij de sporevorming. Onze bacterie kan echter den naam *Bacillus*, met de beteekenis die

---

(¹) Die Formen der Bacterien, 1886, p. 142.

Hueppe er aan hecht, blijven behouden daar eene vormverandering bij de sporevorming bij haar achterwege blijft.

Deze sporevorming treedt in de staafjes op zoodra de omstandigheden, waarschijnlijk mede tengevolge van het ophoopen van het zure ontledingsproduct van de suiker, minder gunstig worden voor hunne ontwikkeling. In elk der staafjes ziet men dan, meestal bij een der uiteinden, één, eerst klein, helder stipje optreden, (fig. 2) dat allengs grooter wordt en aangroeit tot een ovaal lichaampje dat ongeveer 0.7 mikron lang en 0.5—0.7 mikron breed is (fig. 3), en dat door zijn sterk lichtbrekende eigenschappen veel op een druppeltje olie gelijkt. Hetgeen er na de vorming der spore van het oorspronkelijke staafje overblijft, verdwijnt langzamerhand en hetzelfde lot ondergaat ook het volstrekt niet geringe aantal der staafjes die niet tot sporevorming geraakt. Ten slotte blijft er van al het slijm slechts een vrij geringe hoeveelheid van een veel minder slijmige, bijna zelfs droog uitziende massa over welke nagenoeg geheel uit de sporen bestaat.

Bij uitzaaing dezer sporen op den eenen of anderen gunstigen voedingsbodem ontkiemen zij en groeien weder tot een staafje uit dat zich dan vermenigvuldigt door zich door een dwarswand in twee gelijke deelen te verdeelen; deze groeien weder tot de gewone grootte aan, deelen zich wederom, en zoo altijd voort zoolang de levensomstandigheden gunstig zijn, terwijl elke jonge bacterie zich met een slijmlaag omhult. Omtrent de wijze waarop de kieming plaats heeft, een proces dat ook bij de bacterien nog al eens eigenaardigheden doet zien, kan ik nog niets mededeelen.

Tot nu toe heb ik doen voorkomen als of ik uit de op de beschrevene wijze behandelde rietstukken slechts één enkele vorm van bacterien verkregen heb; dit is echter niet het geval daar ook anders gevormde staafjes een aantal malen waargenomen werden, hoewel veel minder algemeen dan de vroeger beschrevene. Nadere bizonderheden omtrent het voorkomen van dezen tweeden vorm, zullen later (p. 31) vermeld worden, en zullen wij ons hier vooreerst bepalen tot de beschrijving van haren vorm en eigenschappen.

Reeds op het eerste gezicht valt het verschil op tusschen *Bac. Sacchari* en de staafjes van den tweeden vorm, daar bij deze de dikte

1.5 mikron bedraagt, en dus het dubbele bedrag bereikt van dat der eersten. De lengte bedraagt somtijds 3, maar meestal 4 mikron terwijl ik langere staafjes of draden nooit waargenomen heb; fig. 11 geeft een voorstelling van hunnen vorm en grootte in verhouding tot fig. 1, daar beide bij dezelfde vergrooting geteekend zijn.

In deze dikkere staafjes ziet men dat de inhoud uit een zeer fijnkorrelige massa bestaat, en hiermede hangt zeer waarschijnlijk samen het uitwendig voorkomen der slijmdruppels, welke door hen gevormd worden.

Dit slijm is nl. niet helder zooals dat van den kleineren vorm, maar het vertoont zich reeds dadelijk wit en ondoorschijnend; veelal is het eveneens dikslijmig, zoo dat men het tot draden trekken kan.

Somtijds echter vormt deze bacterie een deegachtige massa of ook vrij vaste slijmproppen, welke laatste zich dan in hun geheel van de onderlaag laten verwijderen met behulp van een naald alleen. Deze slijmproppen bestaan wederom uitsluitend uit de bacterien en uit het door hen gevormde slijm (Fig. 12), doch de slijmlaag is dun en gewoonlijk niet dikker dan $^1/_2$—1 of hoogstens 2 maal de halve diameter van het staafje. De verhouding van het volume der bacterie tot dat van het slijm door haar gevormd is dus ongeveer als van 1 : $2^1/_2$ of 1 : 7, of hoogstens als van 1 : 26, dus zelfs in het laatste geval nog aanzienlijk veel kleiner dan bij de vroeger beschrevene kleinere staafjes van *Bac. Sacchari.*

Na een drietal dagen, somtijds ook reeds vroeger, beginnen ook deze staafjes sporen te vormen (Fig. 13) welk proces geheel verloopt als boven voor den anderen vorm beschreven werd en 2 dagen later voor alle staafjes ongeveer afgeloopen is. De sporen (Fig. 14) hebben weder, trouwens zooals misschien die van alle bacterien, dezelfde sterk lichtbrekende eigenschappen, hetgeen hier door hunne meerdere grootte vooral opvallend is, daar de lengte zoowel als de breedte ongeveer tweemaal die van de bij *Bac. Sacchari* beschrevene sporen bedraagt, zoodat gene 2 mikron lang zijn bij een breedte van 1.4 mikron.

Daar ook de vorm der staafjes bij de sporevorming steeds cilindervormig blijft, moet deze bacterie dus eveneens tot het geslacht *Bacillus* gebracht worden.

Van enkele bacterien is het bekend dat zij onder veranderde voedingsomstandigheden in meerdere of mindere mate van vorm veranderen zoodat zij bij mikroskopisch onderzoek alléén niet meer als de oude vorm te herkennen zijn. Met het oog daarop heb ik deze tweede vorm zoowel onder zeer gunstige als onder zeer ongunstige voedingsomstandigheden gekweekt om te zien of er eenige afwijkingen waar te nemen waren van den oorspronkelijken vorm. Dergelijke afwijkingen konden echter tot nu toe niet geconstateerd worden, daar integendeel de vorm steeds nagenoeg onveranderd bleef en zelfs minder afwijkingen vertoonde dan voor den anderen bacterie-vorm beschreven werden ([1]). Evenzoo heb ik *Bac. Sacchari* onder zeer verschillende omstandigheden gekweekt, maar de daarbij voortgebrachte staafjes vertoonden nooit zelfs eene toenadering tot den dikkeren vorm.

Hoewel het dus nog steeds mogelijk is dat beide vormen tot dezelfde soort bacterie behooren, hebben mijne proeven mij tot nog toe niets anders opgeleverd dan de waarschijnlijkheid dat men in den dikkeren vorm eene tweede soort te zien heeft, aan welke ik den naam *Bacillus Glagae* wensch toe te kennen, in afwachting van de resultaten van verdere onderzoekingen omtrent de vraag of men recht heeft deze vorm als afzonderlijke soort te handhaven.

Aangezien de bacterien slechts een zeer gering aantal uitwendige kenmerken aanbieden, is het voor de herkenning van de zeer talrijke soorten noodzakelijk van elk dezer nog andere eigenschappen op te sporen, ten einde zich zelf en ook anderen in de gelegenheid te stellen elk der soorten ten allen tijde te kunnen herkennen. Evenzoo is het hier; er zijn een zeer groot aantal staafvormige bacterien, en zelfs voorzeker een groot aantal soorten van het geslacht *Bacillus* (welke dus alle in de wijze van sporenvorming overeenkomen) wier lengte en dikte tusschen dezelfde grenzen liggen als boven hetzij voor de eene of voor de andere bacterie-soort aangegeven werden.

([1]) Een uitzondering hierop vormden slechts de geheel abnormaal gevormde staafjes in oude cultures, welke echter ook hier even als die van *Bac. Sacchari* (vergel. p. 12) tot de »Involutionsformen" moeten gerekend worden.

Heeft men nu de eene of andere bacterie-soort, zoo kunnen hare afmetingen voor de voorloopige herkenning wel is waar zeer groote diensten bewijzen, maar tot een zekere beslissing leiden zij slechts uiterst zelden, zoodat het noodig is bovendien van elke soort zooveel mogelijk te vermelden hoe deze zich onder bepaalde voedingsomstandigheden gedraagt. De veel gebruikte namen van gistings-, pigment-, pathogene bacterien enz. duiden op dergelijke eigenaardigheden, naarmate deze organismen een gisting doen optreden, of een kleurstof ontwikkelen dan wel ziekte verschijnselen in levende wezens veroorzaken.

Dat deze cultures zich bijna zonder einde laten varieeren spreekt wel van zelf, zoodat een dergelijk onderzoek naar de eigenaardigheden eener bacterie nagenoeg nooit afgesloten is.

Voor de cultures kiest men in de eerste plaats die voedingsbodems, welke met het oog op de eigenaardigheden van elke bacterie het meest voor de hand liggen; ik koos daartoe voor de bovengenoemde soorten hoofdzakelijk: merg uit suikerriet, aardappel, gelatine, agar-agar, benevens mengsels van deze beide laatsten en wel, al naar gelang van omstandigheden met of zonder bouillon en suiker.

Omtrent de wijze waarop elk dezer stoffen bereid en aangewend werd zal ik hier niet uitwijden, omdat ik daarmede slechts een herhaling zou geven van hetgeen in alle handboeken over bacteriologische onderzoekingen uitvoerig besproken wordt. Alleen wil ik in herinnering brengen dat alle deze voedingsbodems vooraf gesteriliseerd moeten worden, waarna men een kleine hoeveelheid bacterien met behulp van een vooraf gegloeide platinanaald op dien bodem brengt.

Ik zal nu eerst in het kort een en ander mededeelen omtrent de cultures van *Bac. Sacchari*, dus van den meest algemeen voorkomenden, kleineren vorm, en daarna omtrent die van *Bac. Glagae*.

Op schijfjes suikerriet overgeënt, vormt *Bac. Sacchari* na enkele dagen meestal dik vloeibaar slijm, gelijk aan dat, hetwelk wij op de gekookte stukken riet zagen te voorschijn komen; ook dit bestaat weder uitsluitend uit de, zich snel vermeerderende, bacterien en hunne bijbehoorende slijmlagen. Slechts enkele malen heeft het slijm een vastere consistentie zoodat men op het ingeënte rietschijfje een aantal glasheldere kogels ziet ontstaan, welke langs de inentstreep gerangschikt,

een zeer sierlijk beeld opleveren. Het schijnt dat het water-, maar vooral het suikergehalte van de rietstukjes van grooten invloed is op de consistentie van het slijm, en uit het langzamerhand afnemend gehalte aan suiker laat zich waarschijnlijk ook verklaren dat aanvankelijk vaste slijmkogels, die op ingeënt riet ontstaan zijn, allengs vervloeien en in het gewone slijm overgaan.

Onder in de buisjes, welke de suikerrietstukjes bevatten, zoogenaamde aardappelbuisjes, bracht ik vooraf steeds een kleine hoeveelheid uitgeperst rietsap. Tengevolge van de inenting van het rietschijfje geraakten meestal ook enkele bacterien in die vloeistof waardoor deze zéér langzamerhand eenigszins opaliseerend werd om ten slotte, meestal eerst na enkele weken, in haar geheel dik vloeibaar te worden. Slijmkogels te midden der vloeistof, zooals de vroeger (1) aangehaalde *Leuconostoc mesenterioides* ze maakt, worden hier dus niet gevormd.

Nog betere diensten dan suikerriet bewijzen schijfjes aardappel, vooral omdat bij de cultuur op dezen voedingsbodem enkele kenmerken voor den dag komen die van waarde zijn voor de herkenning der beide besproken soorten bacterien. Reeds vroeger (p. 12) is medegedeeld dat deze methode toegepast werd toen een der rietstukken bacterien opleverde, bij welke de uitwendige kenmerken niet voldoende waren om hunne identiteit met zekerheid te kunnen constateeren. Bij cultuur op een aardappelschijfje leverde echter ook deze afwijkende vorm het gewone habitusbeeld van de cultuur van *Bac. Sacchari* en was het dus als bewezen te beschouwen dat de afwijkend gevormde staafjes toch tot deze soort behoorden.

De ontwikkeling van *Bac. Sacchari* op aardappel heeft zeer snel plaats daar reeds 24 uur na de overenting de bacterien zich over de geheele oppervlakte ontwikkeld hebben. Op de in buisjes gesteriliseerde stukjes aardappel wordt ook eerst een kleine hoeveelheid eenigszins helder slijm gevormd, maar reeds zeer spoedig treedt sporevorming in waardoor dit slijm eerst uitwendig en daarna geheel en al in een witachtige massa overgaat, welke op het oog den indruk maakt als van droog en korrelig te zijn, maar bij aanraking

(1) Mededeelingen van 's Lands Plantentuin VIII, noot p. 29.

(met een uitgegloeiden platinadraad) bemerkt men dat zij uit een samenhangende, deegachtige massa bestaat.

Het droge uiterlijk van het geheel wordt nog verhoogd door het optreden van talrijke, diepe en onregelmatige, meest dwarsche rimpels (vergel. fig. 15). Deze verschijnselen neemt men bijna altijd waar wanneer de ontwikkeling krachtig is; is zij daarentegen zwakker dan verdwijnt het witkorrelig uiterlijk langzamerhand geheel, zonder dat er rimpels gevormd worden en ten slotte ziet men dan van de geheele cultuur niets meer, dan alleen wanneer men het aardappelschijfje tegen het licht houdt, want dan bemerkt men op de plaatsen waar zich de bacterien ontwikkeld hebben een iets donkerder bruine vlek.

De reden waarom de bacterien nauwelijks slijm vormen op aardappel meen ik in de afwezigheid van suiker in dezen voedingsbodem te moeten zoeken, terwijl de reden waarom de sporevorming zoo snel intreedt in de zure reactie van het sap der aardappelschijfjes (die buiten aanraking met water gesteriliseerd worden) gelegen is, daar op schijfjes welke vooraf in veel water uitgekookt zijn, de sporevorming eerst na 2 dagen optreedt.

In buisjes met vloeibare stijfsel ontwikkelt *Bac. Sacchari* zich ook zeer goed; zij vormt een dun vliesje op de oppervlakte, en bovendien een zeer volumineus, vlokkig bezinksel; beide bestaan uit staafjes van den gewonen vorm en afmetingen doch onderling tot lange, gewonden draden vereenigd (fig. 4).

Met zoovele andere bacterien deelt ook de besprokene de eigenschap om gestolde gelatine-bouillon weder vloeibaar te maken, zoowel wanneer in dit mengsel suiker ontbreekt, als wanneer deze stof aanwezig is. Op den bodem verzamelt zich dan een fijnkorrelig bezinksel dat uit de bacterien bestaat. Een gering onderscheid tusschen de culturen met en zonder suiker is daarin gelegen dat de vervloeide gelatine duidelijk consistenter, slijmiger is in het eerste geval dan wanneer suiker ontbreekt; ook hieruit blijkt dus de invloed van deze stof op de slijmvorming.

Op agar-agar-bouillon ontwikkelt de bacterie zich minder goed; op dit mengsel ingeënt bedekt zij langzamerhand de oppervlakte van de

gestolde massa met talrijke kleine, echter samenhangende, kolonies van een witte tot een zeer lichtgele kleur. Vroeger (p. 12) werd er reeds op gewezen dat de lengte der staafjes bij deze cultures steeds aanzienlijk geringer was dan in het slijm dat op suikerriet te voorschijn komt.

De cultuur op agar heeft dit voor boven die op gelatine dat de eerste gelei vast blijft en dus niet door bacterie vervloeid wordt. Daar echter agar minder voor de voeding geschikt is, moet aan een mengsel van agar en gelatine de voorkeur gegeven worden, omdat dit de gunstige eigenschappen van elk der beide bestanddeelen in zich vereenigt. Agar-gelatine-suiker-bouillon schijnt in alle opzichten de meest geschikte combinatie te zijn.

Op dezen voedingsbodem vormt *Bac. Sacchari* vrij dik, dradentrekkend slijm dat een weinig troebel is en zeer veel gelijkt op hetgeen men op de gekookte rietstukken ziet optreden, zoowel als op datgene dat zich bij cultuur op gelatine-suiker-bouillon ontwikkelt. Het slijm bestaat wederom uitsluitend uit de bacterien welke hun gewonen vorm behouden hebben, elk met hare verslijmde wandlaag.

In oplossingen van suiker met bijvoeging van de benoodigde zouten, is het mij nog niet gelukt een flinke ontwikkeling der bacterien te doen plaats hebben, doch dit is waarschijnlijk aan bizondere omstandigheden toe te schrijven. Intusschen worden deze proeven voortgezet.

Op eene oplossing van Liebig's vleeschextract in gedestilleerd water, dus een zeer ongunstige voedingsvloeistof, vormt *Bac. Sacchari* een aaneengesloten laag, welke allengs de geheele oppervlakte bedekt en tevens een eindweegs opkruipt tegen de wanden van de buis. Onder deze omstandigheden treedt reeds zeer spoedig sporevorming in.

Kweekt men de tweede soort, *Bac. Glagae*, op de bovengenoemde voedingsbodems, zoo treden bij enkelen dezer verschillen op met hetgeen *Bac. Sacchari* deed zien.

Op schijfjes aardappel, ook wanneer die niet vooraf geneutraliseerd zijn, ontstaan vooreerst groote druppels van dik, wit, dradentrekkend slijm (Fig. 16) geheel als datgene wat men op rietstukken kan waarnemen. Het slijm doet zich reeds dadelijk veel vochtiger voor en wordt ook in grooter hoeveelheid gevormd dan bij *Bac. Sacchari*. Nooit echter treedt die eigenaardige rimpeling der kolonies op, integendeel steeds

blijft de oppervlakte geheel glad, zelfs wanneer de sporevorming reeds sedert lang ingetreden is, met welk proces ook hier een volume-vermindering van het slijm gepaard gaat. Ten slotte neemt men op de oppervlakte van het schijfje nog slechts een grijsachtige vlek met gladde oppervlakte waar en zelfs na weken heeft dit uiterlijk geene verandering meer ondergaan. Een enkele maal zag ik, en wel op versch in buisjes gesteriliseerde stukjes aardappel, dat na den eersten dag het slijm een eenigszins gele kleur aannam die gaandeweg donkerder werd; mogelijk hangt ook deze kleur met de zure reactie der schijfjes samen, hetgeen echter nog nader onderzocht wordt.

Uit deze beschrijvingen kan reeds blijken welk een uitstekenden dienst de cultuur op aardappel bewijst om de indentiteit van de eene of van de andere soort bacterie uit te maken, ingeval er door den uitwendigen vorm twijfel mocht ontstaan zijn.

Op vloeibare stijfsel gecultiveerd, nam ik geen afwijkingen waar van hetgeen *Bac. Sacchari* vertoonde, evenmin als bij cultures op gelatine, daar ook hier de gelei weder vloeibaar werd, terwijl er een bezinksel van bacterien ontstond dat echter bij *B. Glagae* iets meer vlokkig scheen te zijn.

Op gelei van agar-agar met gedestilleerd water ontstaan zeer klein blijvende kolonies, van een witte kleur, onmiddelijk naast de inentstreep; zij groeien uiterst langzaam en vertoonden zelfs na 27 dagen onveranderd nog hetzelfde uiterlijk.

Een uitstekende voedingsbodem is wederom gelatine-agar-suikerbouillon. *Bac. Glagae* ontwikkelt zich daarop snel en vormt op de oppervlakte een laag van een witte, ondoorschijnende, iets deegachtige massa. Deze laag wordt niet dikker dan hoogstens $1/3$ mM. en bestaat uitsluitend uit de staafjes en hunne sporen. De oppervlakte van deze laag blijft zelfs in de oude culturen volkomen glad en glanzend zonder echter vochtig te zijn. In deze cultuur, evenals trouwens bij al de boven beschreven kweekwijzen, behouden de staafjes hunne gewone afmetingen.

Een verder punt van belang voor onze bacterien is te weten in hoeverre zij tegen hooge temperaturen bestand zijn.

Vooral met behulp van de beschreven cultures op aardappelschijfjes

zijn deze proeven zeer eenvoudig, doch ook de versche rietstukken leenen zich zeer goed tot deze proeven.

Volgens deze laatste methode werd de proef zoo ingericht dat versch gesneden stukken in niet gesteriliseerde glazen schalen gebracht werden en daarna gedurende verschillend lange tijden blootgesteld werden aan de inwerking van stroomenden waterdamp van 98°.5 C. in het sterilisatie-apparaat van Koch. Één schaal bleef er $^1/_2$ uur in, de 3 andere respect. 1, 2 en 3 uur. De 4 × 7 stukken in de 4 schalen waren van slechts 7 opvolgende knoopen van één stok afkomstig, zoodat in elke schaal van elken knoop een vierde deel voorkwam.

Er bleek nu dat 1 dag na de verwarming de slijmontwikkeling begon in de schalen die $^1/_2$ en 1 uur verwarmd waren, terwijl op de beide andere de slijmvorming eerst na 2 dagen zichtbaar werd. Een verblijf van 3 uur bij een temperatuur van 98°.5 C. kon de bacterien dus nog niet dooden.

Een herhaling van deze proef gaf hetzelfde resultaat.

Evenzoo een proef met aardappelcultures, waarvan 6 stuks tegelijkertijd gereed gemaakt werden en welke dadelijk na de inenting gehouden werden op 95° C. gedurende resp. $^1/_4$, $^1/_2$, $^3/_4$, 1, 1$^1/_2$ en 2 uur. In de 4 eerste buisjes was, volgens gewoonte, reeds na 24 uur de ontwikkeling duidelijk zichtbaar, doch in de beide laatsten trad deze eerst na 48 uur op.

Ook hier verdragen dus de bacterien een verwarming tot bij het kookpunt van water gedurende 2 uur.

Temperaturen hooger dan 100° verdragen zij echter minder gemakkelijk. Versche stukken riet in de autoclave gedurende 30′ verwarmd op 120° of op 110° ([1]) doen niet dan uiterst zelden slijm ontwikkelen; gedurende 10′ op 120° gehouden, zag ik in eenige gevallen toch nog slijm ontstaan, maar verwarming op 110° gedurende 10′ verdragen de bacterien zonder schade.

([1]) Bij deze tijden van verwarming moet nog medegerekend worden ongeveer 3′ voor het aanwarmen van 100° tot op 110° of 120° nadat de autoclave gesloten is en bovendien 3 à 4′ voor het afkoelen van die temperaturen tot op 100°, daar de autoclave niet eerder geopend mag worden alvorens de drukking der lucht binnen in tot op 1 atmospheer gedaald is.

Wanneer men hierbij in aanmerking neemt dat de cellen van het suikerriet reeds gedood worden wanneer men ze bijvoorbeeld gedurende 15′ verwarmt tot 60°, zoo blijkt wel ten duidelijkste dat er geen kans bestaat om de bacterien in het inwendige van het riet door warmte te dooden, zonder dat tevens lang vóórdien het leven van het riet zelf ophoudt.

Wij hebben boven herhaaldelijk beschreven hoe op stukken riet na 1 of meer dagen slijm verschijnt wanneer men deze stukken gedurende eenigen tijd aan zoodanige hitte blootstelt dat de cellen van het riet sterven. Hieruit mag men echter niet afleiden dat versche, levende stukken dit verschijnsel niet zouden vertoonen.

Wanneer men nl. op boven beschreven wijze gesneden stukken uit de knoopen van een levenden rietstok in een gesteriliseerde glazen schaal met deksel brengt, ziet men somtijds na een paar dagen ook op deze slijm verschijnen, dat hetzelfde uiterlijk vertoont als hetgeen men op de gekookte stukken waarneemt. Het onderscheid bestaat echter daarin dat bij deze laatste stukken zich het slijm veel overvloediger ontwikkelt dan bij de niet gekookte.

Brengt men echter een schaal met levende stukken, waarop zelfs na eenige dagen geen slijm verschenen is (in een geval deed ik de proef met stukken die reeds vóór 6 dagen in cultuur genomen waren) in het apparaat van Koch en verwarmt ze daarin gedurende een half uur tot 98.°5 C., waarbij dus de cellen van het riet sterven, dan ziet men geregeld na 24 uur ook op deze slijm te voorschijn komen, geheel op dezelfde wijze als wanneer men versche stukken dadelijk doodt.

Was vooraf op de levende stukken slijmontwikkeling opgetreden, zoo wordt deze meestal na het verwarmen overvloediger. De oorzaak van de minder krachtige ontwikkeling der bacterien op nog levende stukken hangt zeer waarschijnlijk daarmede samen dat in deze slechts het sap uit de doorgesneden cellen tot voedsel der bacterien dienen kan, omdat de ongeschonden, nog levende cellen hun sap niet loslaten, terwijl daarentegen in de vooraf gedoode rietstukken het sap uit alle cellen voor de bacterien disponibel is, daar het nu niet meer door

elke cel vastgehouden wordt. Uit deze proef zou dan volgen dat de bacterien veelal niet in staat zijn normale, levende cellen te doen sterven, een omstandigheid, die, wanneer zij bij nader onderzoek bewaarheid wordt, ons de bacterien voor de gezonde plant vrij wat minder schadelijk moet doen achten dan anders het geval zou zijn ([1]).

III.

Hebben wij tot nu toe in het kort de vormen en eigenschappen der bacterien besproken, welke uit het riet konden gekweekt worden, zoo moeten wij nu de aandacht wijden aan de vraag: in welke rietstokken en op welke plaatsen in deze die bacterien aangetroffen worden.

Eerst zullen wij die resultaten bespreken welke met het bloote oog kunnen waargenomen worden, terwijl wij daarna tot die van het mikroskopisch onderzoek zullen overgaan.

De gevallen waarin slijmontwikkeling waargenomen werd op de op boven beschreven wijze behandelde rietstukken, wensch ik tot de volgende groepen te vereenigen:

1°. Riet waaraan verschijnselen van sereh-ziekte waar te nemen waren.

In de eerste plaats werd hiervan onderzocht een stengel van een potplant van *Teboe Tjeribon 2* ([2]), 20 maanden geleden geplant van bibit afkomstig van Dr. Soltwedel. De stok was tot aan de blad-

([1]) Bij de beschreven proeven met ongekookte stukken ziet men dat de oppervlakte langzamerhand rood wordt, terwijl de gedoode stukken daarentegen ten allen tijde ongekleurd blijven. Die roode verkleuring moet voorzeker toegeschreven worden aan het langzaam afsterven der cellen bij de sneevlakten, waarbij oxydatie van de inhoudsstoffen plaats heeft. In het celvocht komen nu bij de meeste planten een of meer opgeloste, ongekleurde bestanddeelen voor, welke door oxydatie in een gekleurde stof overgaan. Die kleur kan zeer verschillend zijn, als bv. donkerbruin, bij *Helianthus*, vele *Orchideen* en andere, oranje bij *Impatiens*, blauw bij *Pelargonium* en eveneens bij de indigo- leverende planten, terwijl dan het suikerriet ons een voorbeeld voor het optreden eener roode kleur levert. Deze kleurstoffen trekken in de celwanden zoodat men later deze gekleurd vindt, zonder dat die kleur echter tijdens het leven der cel daar aanwezig was, (vergel. omtrent dit onderwerp de drie opstellen van Prof. de Vries in het *Maandblad voor Natuurwetenschappen* 1886, n°. 1 en 5, benevens 1887, n°. 4).

([2]) Omtrent de beteekenis dezer cijfers, zie mijne vorige Mededeeling, p. 31 en volg.

bocht ongeveer $^3/_4$ Meter hoog, vertoonde duidelijk waaiervormig uitstaande bladeren doch zonder wortels aan de knoopen. De internodien waren slechts 1.5 cM. dik en de leden gemiddeld een paar centimeter lang, maar toch zag de stok er vrij flink uit alsof de plant bezig was zich van de ziekte te herstellen; de andere, reeds afgestorven stokken van denzelfden stoel vertoonden veel meer dan de onderzochte het eigenaardige, sereh-achtige uiterlijk.

De internodien werden als gewoonlijk gedurende 10′ in kokend water gebracht en daarna in een gesteriliseerde schaal geplaatst. Eén dag na die bereiding waren op enkele der 8 stukken reeds eenige kleine druppels slijm te zien op de schuin liggende bovenzijde, en een dag later was die oppervlakte van alle stukken geheel bedekt met zeer groote slijmdruppels, waarin uitsluitend *Bac. Sacchari* voorkwam. Den derden dag was het slijm nog toegenomen zoodat het van de schuine kanten afgevloeid was, en toen begon op enkele plaatsen sporevorming op te treden. De cultuur verspreidde een sterk zure geur.

Vervolgens werd gekozen een stengel uit den 2en aanplant in 's Lands Plantentuin, en wel van 1e snit, 2e generatie van *T. Tjeribon 1* (¹).

Het resultaat was weder geheel hetzelfde. Op alle onderzochte knoopen verscheen het gewone heldere slijm van *Bac. Sacchari*.

Twee stokken afkomstig van een bibit-aanplant toebehoorende aan een Chinees werden daarna onderzocht.

Volgens de gegeven beschrijving liet de wijze van cultuur op die velden zeer veel te wenschen over, maar toch waren, naar men mij berichtte, stokken van het uiterlijk als de onderzochte, daarin niet

(¹) Van de 12 bibits van deze soort welke als 2e generatie van de bibits van Dr. Soltwedel uitgezet waren, leverden slechts drie bibits zeer duidelijk sereh-zieke planten. Deze drie waren afkomstig van één zelfden stok, terwijl de overige 9 van drie andere stokken gesneden waren.

In den geheelen tweeden aanplant, van 200 bibits, alle tweede generatie van de 12 soorten bibit van Dr. Soltwedel, vertoonden slechts de drie bovengenoemden sereh-verschijnselen, terwijl daarentegen alle anderen prachtige, flink ontwikkelde stokken opleverden, welke op een leeftijd van 11 maanden 4 à 5 M. hoog waren, tot aan de bladbocht gemeten. Een der suikerplanters van Java, die dezen aanplant bezichtigde, schatte de opbrengst suiker per bouw, volgens den stand van het riet, op 150 pikol, dus vrij wel het maximum dat op het oogenblik op de suikerplantages bereikt wordt. Hierbij moet echter in aanmerking genomen worden dat het suikergehalte der stokken onbekend was.

zeer algemeen. De leden waren kort, en de wortels en oogen aan de knoopen uitgeloopen, zoodat de verschijnselen waarnaar gewoonlijk het ziek zijn beoordeeld wordt, aanwezig waren; de eene stok vertoonde echter die kenmerken in sterkere mate dan de andere.

Bij beide was echter het resultaat der cultuur volkomen gelijk aan het bij andere stokken verkregene.

De Heer KOORDERS, die onlangs den Heer IJZERMAN op zijne tocht dwars door Midden-Sumatra vergezelde, was zoo vriendelijk stokken te verzamelen van een elftal rietsoorten, welke aldaar in de binnenlanden in het klein geteeld werden. Niettegenstaande de vele en groote moeielijkheden bij het transport door deze onherbergzame streken, gedurende welke tocht zelfs een deel van de op reis verzamelde voorwerpen wegens gebrek aan koelie's moest verbrand worden, gelukte het den Heer KOORDERS toch alle stokken tot aan Sumatra's Oostkust te brengen.

Jammer genoeg was het daarom dat de Chineesche matrozen, aan boord van het schip dat de expeditie naar Singapore overvoerde, een deel der rietstokken opgegeten hebben, zoodat slechts een drietal soorten te Buitenzorg konden aangebracht worden.

Omtrent de herkomst van deze rietsoorten meldde de Heer KOORDERS mij het volgende:

De stokken zijn gesneden op 26 Maart '91 in een kleinen rietaanplant van een Inlander, tusschen *Langgam* en *Siak* ongeveer half weg, 5 dagreizen van *Siak*. De ladang (droog rijstveld) heette *Pangkalan dolè* en was gelegen op een hoogte van ongeveer 30 Meter. De eigenaar van den rietaanplant zeide dat alle bibits steeds van eigen stokken genomen werden, en men heeft hier dus zeer waarschijnelijk met soorten te doen welke sedert lange tijden aldaar inheemsch zijn. In de diepste binnenlanden, ook in de onafhankelijke districten, en zelfs in de armste streken zag de Heer KOORDERS steeds 2 of meer suikerrietvarieteiten rondom de ladang-huisjes.

De stokken kwamen alhier in zeer goeden staat aan, zoodat ik in de gelegenheid was van alle drie de varieteiten bibits uit te planten. Van de 11 bibits (elk met één oog) kwamen er 10 op, doch van deze werden er 4 door witte mieren vernield, zoodat er nu 6 jonge planten voorhanden zijn, van de eene soort 4, van de beide andere elk 1.

De namen dezer soorten zijn mij niet bekend, en de etiquetten met de Inlandsche namen, door den Heer KOORDERS aan de stokken vastgehecht, gingen eveneens door de schuld der matrozen verloren, zoodat ik de soorten niet anders kan onderscheiden dan naar de kleur der geledingen, daar deze bij de eene soort witachtig, bij de tweede lichtgroen en bij de derde rood was.

Alle drie de stokken waren door boorders aangetast, en vertoonden korte leden met hier en daar uitgeloopen wortels en zagen er dus verre van normaal uit.

Andere knoopen van deze drie stokken werden op de gewone wijze behandeld, en ook uit alle knoopen verkreeg ik de gewone *Bac. Sacchari*, wier identiteit voor alle drie nogmaals door aardappelcultuur bewezen werd.

2^{e}. Gezond, flink riet, zonder een spoor van sereh-verschijnselen.

Bij de beschrijving van de resultaten dezer proeven is het niet noodig in bizonderheden te treden, daar de stokken onderling nauwlijks verschillen vertoonden, en dus op de algemeene beschrijving, vroeger (p. 4 en volg.) gegeven, kan verwezen worden.

Voor deze proeven werden gebruikt de volgende stokken: *T. Batoeng* ***2***, *T. Redjoeno* ***3***, *T. Tjeribon* ***2***, *T. Poetih* ***3***. alle stokken van 2^{e} snit, 1^{e} generatie van bibit van D^{r}. SOLTWEDEL afkomstig; vervolgens

Een stok afkomstig van zieke bibit in 's Lands Plantentuin in 1885 uitgeplant; sedert waren nu en dan van den stoel alle stokken afgesneden, doch de hoeveelste snit dit nu was is onbekend. De stokken waren alle flink ontwikkeld en 4 en 5 M. hoog.

Verder: *Zwart Borneo-riet, Dajaksch riet, Gestreept riet* en een soort van onbekenden naam. De drie eersten waren afkomstig van tweeden snit van bibit uit den Cultuurtuin alhier; de vierde soort was eveneens tweede snit, maar van bibit afkomstig uit 's Lands Plantentuin zelf; daarom wordt deze soort hier eenvoudig *tuinriet* genoemd.

Vervolgens: stokken van 1^{e} snit, 2^{e} generatie van de 12 verschillende bibits van D^{r}. SOLTWEDEL, dus *T. Batoeng* ***1***, ***2*** en ***3***: *T. Redjoeno* ***1***, ***2*** en ***3***: *T. Tjeribon* ***1***, ***2*** en ***3*** en *T. Poetih* ***1***, ***2*** en ***3***.

Verder: riet afkomstig van 11 verschillende kampongs rondom Buitenzorg gelegen, en buitendien stokken uit den kampong behoo-

rende bij den bergtuin van Tjibodas (op een hoogte van 1400 Meter aan de helling der Gedeh gelegen).

Ten slotte: drie stokken, van in verschillende maanden geplant riet, afkomstig van den aanplant van een bibitcultuur-maatschappij.

3°. Zaairiet, afkomstig van het Proefstation te Pasoeroean.

In Augustus '90 ontvingen wij van genoemd Station een tiental zaailingen, toen oud twee maanden. Op een leeftijd van $9\frac{1}{2}$ maand was de grootste stok 1 M. hoog (gemeten tot aan de bladbocht); deze werd voor de proef gebruikt. Ook op dit zaairiet trad de gewone bacterie op, volkomen op dezelfde wijze als bij andere rietstokken.

4°. Toen nu gevonden was dat alle riet, van welken oorsprong ook en zelfs zaairiet de besproken slijmvorming deed zien, wendde ik mij tot andere *Saccharum*-soorten.

Ik onderzocht daartoe stokken van *T. Troeboe* (*Saccharum edule*) afkomstig van twee verschillende kampongs om Buitenzorg gelegen.

Daarna *Glaga* (*S. spontaneum*) zoowel afkomstig van gekweekte planten in 's Lands Plantentuin, als van wild groeiende planten van Tjibodas. Vooral de laatsten waren prachtig ontwikkeld met leden van 45 cM. lang en tot 2 cM. dik, zoodat zij op dunne stokken suikerriet geleken.

Het resultaat kwam wederom volkomen overeen met dat der stokken van *Sacch. officinarum.*

5°. Nu de eigenschap van slijm te ontwikkelen ook bij de andere plantensoorten, nauw met suikerriet verwant, bleek voor te komen, wendde ik mij tot andere *Gramineen,* welke geheel willekeurig uitgekozen waren uit diegenen welke in den Plantentuin gekweekt worden.

Zoo onderzocht ik geheel op de beschreven wijze *Phragmites Roxburghii, Arundinaria stricta* (een dikke, geel gekleurde soort bamboe) *Bambusa nana, Amplidonax bifaria, Paspalum molle, Coix lacryma, Zea Mais* en *Gymnothrix elegans.*

Hierbij bleek nu dat bij alle deze soorten op de sneevlakte der stukken meer of minder slijm optrad, en dat deze slijmvorming steeds door *Bac. Sacchari* veroorzaakt werd, zooals telkens door aardappelcultuur vastgesteld werd.

Bij Mais trad naast *Bac. Sacchari* ook wederom *Bac. Glagae* op, die zich op aardappel ook weder juist zoo ontwikkelde als boven (p. 21) beschreven werd. Van Mais werden behalve de stengelknoopen ook nog de nog onrijpe kolven voor cultuur gebezigd waarbij bleek dat zoowel op de sneevlakten van den spil van den kolf als ook op die der nog onrijpe zaden slijm te voorschijn kwam.

Bij Mais zoowel als bij *Bambusa* was de slijmvorming zeer overvloedig en deed voor die bij suikerriet nauwlijks onder, hoewel bij de eersten de sporenvorming vroeger scheen op te treden ([1]).

Bij onderzoek van *Arundinaria* werden eenige overlangsche doorsneden door een zeer jongen uitlooper gebruikt (onderaan was deze toch ongeveer 8 cM. dik); de bacterien-ontwikkeling vertoonde in haar uiterlijk eenig verschil met hetgeen *Bac. Sacchari* gewoonlijk deed zien, hoewel toch geen andere bacterie voorkwam zooals uit de cultuur op aardappelschijfjes bleek. Het gemis aan suiker in die uitgekookte schijven bij aanwezigheid van veel zetmeel was misschien niet vreemd aan het veranderd uiterlijk van het bacterien slijm.

Op *Phragmites, Gymnothrix, Amplidonax, Coix* en *Paspalum* (de laatste is een der kleinere, kruidachtige grassen) traden geen duidelijke slijmproppen te voorschijn, daar de sneevlakten der stukken zich in hun geheel of slechts plaatselijk met een zeer dun laagje slijm bedekten, zoodat het in die gevallen moeielijk was zich een overzicht over het optreden van het slijm op die stukken te verschaffen.

De positieve resultaten welke alle genoemde *Gramineen* opleverden,

---

([1]) Aan de kolossale stoelen van *Gigantochloa* (*Bambusa*) *apus*, welke in 's Lands Plantentuin op en om de begraafplaats der Gouverneur-Generaals staan, neemt men aan verscheidene der 10 tot 15 M. lange stengels niet zelden abnormaal gevormde zijtakken waar. Een dergelijke zijtak blijft dunner dan gewoonlijk, maar gaat zich spoedig zeer sterk en herhaaldelijk vertakken, zoodat zich geheele bossen vormen, welke naar beneden afhangen. De bladeren zijn duidelijk veel kleiner dan gewoonlijk, en het geheel ziet er veelal als half verdroogd uit.

Deze bossen nemen soms zeer groote afmetingen aan, o. a. een dezer heeft een lengte, die naar schatting 3 à 4 M. bedraagt bij een diameter van $^1/_2$ M. ongeveer. Ik kon niet te weten komen of deze abnormale takken ooit aan de productie van normale stengels afbreuk doen, maar toch heeft men hier voorzeker te doen met een ziekte-verschijnsel, waarbij mogelijk ook onze *Bac. Sacchari* hare rol speelt. Tergelegener tijd hoop ik dit nader te onderzoeken.

waren voorloopig voldoende om mij te overtuigen, dat de verschijnselen welke ik bij suikerriet waargenomen had, niet zoo geheel afwijkend waren van die welke verwante planten vertoonden.

Met het oog op de kennis der sereh-ziekte en hare oorzaken scheen mij dit voorloopig voldoende toe, hoewel het hier gevonden feit van zooveel theoretische beteekenis is, dat ik het later aan een meer uitvoerig onderzoek hoop te onderwerpen.

Van de boven aangehaalde rietsoorten werden in het geheel onderzocht 69 stokken (waaronder slechts zelden twee van een zelfden stoel) en van deze ongeveer 570 knoopen. Onder dit voorzeker niet geringe aantal zijn er mogelijk slechts een vijftal knoopen geweest, bij welke geen slijmvorming waargenomen werd zoodat men hieruit wel mag afleiden dat de beschrevene eigenschap aan alle rietstokken eigen is, hoewel het nog steeds zeer wenschelijk blijft die algemeenheid ook nog door dergelijke onderzoekingen in een andere deelen van Java te constateeren.

Bij alle de genoemde stokken werd steeds *Bac. Sacchari* gevonden, slechts met de volgende uitzonderingen, waarbij alléén *Bac. Glagae* aangetroffen werd: 2 stokken van *Glaga,* afkomstig van den bergtuin Tjibodas, een stok uit kampong *Sawah* (bij Buitenzorg) en een stok 1[e] snit, 2[e] generatie van *T. Tjeribon* **1**.

Hierbij dient echter opgemerkt te worden dat deze de eerste gevallen waren, waarbij de tweede, grootere băcterie gevonden werd, (omdat ik ze voor het eerst op *Glaga* zag, stelde ik voor haar *Bac. Glagae* te noemen) en dat er toen door mij nog niet op gelet werd of ook de gewone soort voorkwam. In latere gevallen werd daarop echter steeds acht gegeven, en daarbij bleek dat *Bac. Sacchari* nooit gemist werd wanneer *Bac. Glagae* aanwezig was. Om deze redenen meen ik dat het zeer goed mogelijk, en zelfs zeer waarschijnlijk is dat ook in de bovengenoemde gevallen *Bac. Sacchari* niet ontbrak.

Om dezelfde reden kan het zeer goed zijn dat ook bij de eersten der onderzochte stokken *Bac. Glagae* in kleine hoeveelheid zich vertoonde, zoodat het mogelijk is, dat bij nader onderzoek zal blijken dat *Bac. Glagae* meer algemeen voorkomt naast *Bac. Sacchari* dan tot nu toe door mij gevonden werd.

Beide bacteriensoorten tegelijk, echter steeds in afzonderlijke slijmdruppels, vond ik bij riet uit de kampongs *Tjintjaoe* en *Soekarani*, vervolgens bij *T. Tjeribon* **3** en *T. Redjoeno* **3** (beide 1e snit, 2e generatie), bij 2 stengels *T. Troeboe* en bij *Glaga* afkomstig uit den Plantentuin, (een andere stok van denzelfden stoel gaf daarentegen slechts *Bac. Sacchari*) en bovendien bij Mais.

Bij genoemden stok van *T. Redjoeno* **3** kwamen aan één der knoopen twee slijmkogels van *Bac. Glagae* voor den dag, terwijl alle hoogere knoopen slechts *Bac. Sacchari* vertoonden. Op één der knoopen van *T. Troeboe* kwam één slijmdruppel van eerstgenoemde, naast vele andere van *Bac. Sacchari* te voorschijn terwijl ik hetzelfde eenige malen waarnam bij verschillende stokken van *T. Tjeribon* **3**, 2e generatie.

Het resultaat uit al de boven aangehaalde cultuurproeven is dus dit:

dat *Bac. Sacchari* in alle stengels voorkomt, zoowel van het suikerriet, als van verwante *Saccharum*-soorten, als ook van andere *Gramineeën*;

dat *Bac. Glagae* niet altijd naast de vorige soort optreedt, maar toch ook in geen enkel goed geconstateerd geval alléén voorkwam;

dat de bacterien, welke vroeger in de vaten van suikerrietstokken aangetroffen werden en aldaar door hunne slijmvorming de vaten bleken te kunnen verstoppen (zie vorige Mededeeling) geheel overeenkomen met *Bac. Sacchari* uit het slijm dat op de rietstukken optreedt,

IV.

Nu wij dus gezien hebben dat de bacterien op alle de op boven beschrevene wijzen behandelde rietstukken optreden, kunnen wij overgaan tot de vraag, op welke plaatsen die bacterien hoofdzakelijk te voorschijn komen.

Beschouwt men het optreden van slijm op een groot aantal rietstukken, dan blijkt dat de plaatsen waar de nog kleine slijmdruppels zichtbaar worden, een zekere regelmaat vertoonen, die wel niet overal, maar toch zeer veelvuldig meer of minder duidelijk te voorschijn treedt.

Deze regelmaat uit zich vooral in het verkiezen van bepaalde plaatsen op de sneevlakten der behandelde rietstukken boven andere; deze bevoorrechte plaatsen zijn:

eerstens, de onmiddelijke nabijheid van de opperhuid, en aldaar vooral dicht boven de inplanting van het blad; en

ten tweede, onmiddellijk onder en boven het weefsel van den knoop in het inwendige van den stok.

Bereidt men daarom stukken van den beschreven vorm, waarbij de eene snede schuin door den geheelen knoop gaat, zoo treft men daarbij noodzakelijk een deel der opperhuid boven de inplanting van het blad, terwijl bovendien het knoopweefsel geheel doorgesneden wordt, zoodat men dit als een band dwars over de sneevlakte kan vervolgen. De gunstigste plaatsen voor het optreden van het slijm worden dus geraakt, en om deze redenen werd dan ook boven het gebruik van op die wijze gesneden stukken aanbevolen. Op deze ziet men dan dikwijls het eerst één of enkele kleine slijmdruppeltjes aan den omtrek optreden; gelijktijdig of iets later komen dan andere bij de grens van het knoopweefsel midden op de sneevlakte voor den dag en deze laatste vooral veroorzaken steeds de grootste slijmvorming. Ik wensch hier te herhalen dat dit beeld wel is waar niet zelden zóó scherp optreedt, doch dat dit toch volstrekt niet altijd het geval is, want zoowel in het midden van het knoopweefsel als ook in het parenchym der internodien ziet men niet zelden eveneens slijmdruppels optreden.

Voor nader onderzoek naar deze, als het ware bevoorrechte plaatsen kan ik aanbevelen gebruik te maken van overlangsche of schuine schijfjes van 1 tot 2 mM. dikte van welke men een groot aantal uit één zelfden knoop snijdt. Deze worden wederom gekookt, doch slechts enkele minuten, daar bij langeren duur alle voor de bacterien noodzakelijke voedingsstoffen uit de cellen in het omgevende water zouden overgaan. Op elk der schijfjes ziet men dan later een aantal slijmdruppels ontstaan en uit de gecombineerde resultaten van al die schijfjes kan men dan nog beter dan anders als het ware de bevoorrechte plaatsen leeren kennen.

Ook de hoogere stengelknoopen, welke nog binnen de bladscheeden besloten zijn, vertoonen geheel hetzelfde, zelfs bij degenen welke tot

op $1\,{}^1/_2$ cM. van den top af gelegen zijn is, het optreden van het slijm nog duidelijk waar te nemen wanneer men dunne overlangsche schijfjes aan de cultuur onderwerpt. Daarbij ziet men dan echter tevens dat hier en daar ook op het weefsel der internodien slijmdruppels te voorschijn komen. Dichter bij den top laat zich deze regel niet verder nagaan omdat daar het onderscheid tusschen knoop en internodium nog niet zichtbaar is, maar toch heb ik in verschillende gevallen slijm zien optreden in de onmiddelijke nabijheid van het vegetatiepunt van den eindknop, zoowel als van de zijknoppen, evenals op de allerjongste bladeren.

Bij deze verspreidingswijze der slijmdruppels op de sneevlakte moet men echter niet vergeten, dat de plaatsen waar deze druppels optreden volstrekt niet juist de plaats behoeven aan te geven waar oorspronkelijk de bacterien voorkwamen, want het is zeer goed mogelijk dat bij het snijden er bacterien van de eene cel naar een andere overgebracht worden, zoodat zij zich op eene andere plaats ontwikkelen dan waar zij zich vroeger bevonden.

Aan bovengemelden regel hecht ik dan ook voorloopig weinig meer beteekenis dan als kleine aanwijzing omtrent de plaats waar men bij mikroskopisch onderzoek misschien de meeste kans heeft de bacterien aan te treffen.

Toen nu de cultures zooveel hadden geleerd, werd het tijd de vraag te stellen: van waaruit ontwikkelen zich de slijmdruppels? Hierbij bepalen wij ons echter uitsluitend tot *Bac. Sacchari* omdat deze bleek constant in het riet voor te komen.

Daar bij het bereiden der stukken riet voor de cultures zoowel vaten als cellen verwond worden, bestaan er drie mogelijkheden, met betrekking tot de plaats van oorsprong der slijmvorming, nl. òf de bacterien ontwikkelen zich van uit de vaten, òf van uit de cellen òf eindelijk van uit de intercellulaire ruimten.

Bij onderzoek van rietstukken twee dagen na de toebereiding [1] bleek dat het bacterienslijm, dat groote gedeelten van de sneevlakten be-

---

[1] Tot dit onderzoek werd eerst overgegaan nadat de stukken tengevolge van een verblijf in absoluten alcohol gehard waren.

dekt had, daarbij tevens in vaten, maar vooral in intercellulaire gangen ingedrongen was, tot ver binnenwaarts. Deze kanalen bevatten dan zeer veel opeengehoopte bacterien en slechts weinig slijm.

De reden van dit indringen laat zich zeer goed verklaren wanneer men in aanmerking neemt, dat in deze ruimten, dus in de onmiddelijke nabijheid der gedoode cellen, de bacterien veel voedsel kunnen vinden bij veel geringere concurrentie dan aan de sneevlakte, daar de ruimte in de intercellulaire gangen o. a. niet zoo groot is om groote hoeveelheden bacterien te kunnen bevatten. (1)

Men ziet hieruit echter dat het onderzoek van stukken, 2 dagen na het koken, ons met het oog op de gestelde vraag voorloopig niet verder brengt omdat, daar de aangesneden cellen zoowel als een deel der vaten en der intercellulairen met bacterien gevuld zijn, deze zoowel uit de eene als uit de andere elementen afkomstig kunnen zijn.

Onderzoekt men stukken korten tijd nadat zij gekookt zijn, bv. één dag daarna, dan ziet men hier en daar in eenige der aangesneden cellen (wanneer men een niet te dunne doorsnede van de sneevlakte afsnijdt) grootere of kleinere bacterien-kolonies liggen. De kleine kolonies bereiken, wanneer de cel eenigszins diep is, den rand van den doorgesneden celwand niet, zoodat zelfs in aangrenzende cellen de kolonies volkomen van elkander gescheiden zijn. Eerst bij verdere ontwikkeling vullen zij de cellen meer en meer aan, bereiken den rand en spoedig daarna smelten de naburige kolonies tot een grootere samen welke men dan als een kleinen druppel op de sneevlakte waarneemt. Deze wordt dan allengs grooter door de steeds voortgaande vermenigvuldiging der bacterien, en niet minder door hunne voortdurende slijmvorming en zoo vormen zich de groote druppels, welke ten slotte de sneevlakte geheel of ten deele bedekken.

Gevallen waarin de slijmvorming van uit de vaten uitging heb ik niet met zekerheid kunnen constateeren, zoodat dit, hoewel mogelijk, toch

(1) Het moet waarschijnlijk mede aan de in de intercellulaire ruimten ingedrongen bacterien toegeschreven worden, dat de rietstukken zelfs van volwassen knoopen na een cultuur van 3 dagen dikwijls zeer week worden, terwijl dit met de topstukken in nog veel hoogere mate het geval is.

Een inwerking van het door de bacterien gevormde zuur op de intercellulaire stof is mogelijk aan dit verschijnsel niet vreemd.

voorzeker veel zeldzamer voorkomt dan die van uit de cellen. Hierbij moet men echter niet vergeten dat ik voor al deze onderzoekingen bijna uitsluitend flink ontwikkeld en gezond uitziend riet gebruikte. Ontwikkeling van uit de intercellulairen nam ik nooit waar.

De beschreven waarnemingen wijzen er dus op dat de slijmvormende bacterien althans in hoofdzaak afkomstig zijn uit de cellen en niet uit de vaten. Een bewijs daarvoor leveren deze resultaten nog niet, en wel omdat de bacterien, welke zich in de cellen blijken te ontwikkelen, ook bij het snijden van af andere plaatsen naar die cellen kunnen overgebracht zijn. Hierbij moet men echter acht blijven geven op het resultaat van onze boven beschreven cultuurproeven waarbij het bewijs geleverd werd dat die bacterien noodzakelijk afkomstig moeten zijn uit het inwendige van den rietstok.

Aan de hand van de zooeven verkregen aanwijzing moeten wij nu trachten te bewijzen, dat de bacterien inderdaad van uit de cellen afkomstig zijn, hetgeen slechts dan geheel overtuigend kan geschieden, wanneer wij in staat zijn aan te toonen dat die bacterien (of hunne sporen) ook in de ongeschonden cellen voorkomen.

De grootste omzichtigheid is hierbij echter noodzakelijk, niet alleen omdat het mikroskopisch onderzoek zelf reeds van minutieusen aard is, maar vooral ook omdat men in de bacterien-literatuur herhaaldelijk mededeelingen aantreft omtrent het voorkomen van bacterien in levende plantencellen, welke meeningen echter steeds bleken te berusten op zóó weinig betrouwbare onderzoekingen, dat men bij deze onderzoekingen de grootste voorzichtigheid moest in acht nemen.

Mij is dan ook uit de literatuur geen enkel goed geconstateerd geval bekend van het voorkomen van bacterien in levende cellen, terwijl de laatsten zich daarbij als geheel gezonde cellen gedroegen. Het gevolg van deze weinig voldoende onderzoekingen is dan ook juist geweest dat velen sterk zijn gaan twijfelen aan dat voorkomen van bacterien in plantencellen.

Hebben wij nu dus gezien dat in sommige, doch op verre na niet in alle, aangesneden cellen der rietstukken, 24 uur ongeveer na de koking, zich bacterienkolonies ontwikkelen, thans rijst de vraag: hoe is het op dat oogenblik met de onderliggende cellen gesteld?

Hieromtrent geven overlangsche doorsneden ons het beste uitsluitsel vooral, wanneer men daarbij zorg draagt dat in die praeparaten de oorspronkelijke buitenlaag (dus met de aangesneden cellen) voorkomt.

Op de overlangsche doorsneden ziet men dus wederom die aangesneden cellen en in eenigen dezer kolonies bacterien. In de daaronder liggende lagen van ongeschonden cellen neemt men echter veelal geen bacterien waar, behalve hier en daar enkelen in één cel of in een kleine groep van cellen, welke of direct onder de oppervlakte liggen, of ook 1 of hoogstens 2 cellagen daarvan verwijderd blijven; in deze ziet men dan echter dezelfde groote bacterien-kolonies die, dikwijls de cel geheel vullen, zoo als wij ze in de aangesneden cellen aan de sneevlakte vonden.

In vele gevallen viel het mij daarbij niet moeielijk te constateeren dat die cellen volkomen ongeschonden waren, zoodat de mogelijkheid van het door het snijden overbrengen der bacterien van buiten af in die cellen geheel buitengesloten was. Geheel op dezelfde wijze zag ik ook cellen met *Bac. Glagae* gevuld, maar natuurlijk veel zeldzamer.

Op grooteren afstand van de sneevlakte neemt men dergelijke cellen volstrekt niet meer waar; hieruit mag men echter niet besluiten dat in deze cellen volstrekt geen bacterien voorkomen, daar het zeer goed mogelijk en zelfs waarschijnlijk is dat de omstandigheden, welke binnen in het rietstuk heerschen, zoozeer afwijken van die aan de oppervlakte, dat zij geheel onvoldoende zijn voor een krachtigen groei en vermenigvuldiging der enkele, mogelijk in die cellen aanwezige bacterien. Onder die ongunstige omstandigheden reken ik, in de eerste plaats het gebrek aan zuurstof, aan welk gas de bacterien groote behoefte schijnen te bezitten, zooals ik uit verschillende verschijnselen bij de cultures (op gelatine enz.) meen te mogen afleiden; in de tweede plaats bevatten de cellen in het midden der stukken waarschijnlijk een grooter hoeveelheid zuur, dan die aan de oppervlakte omdat deze stof bij de koking voor een groot deel uit de, bij de oppervlakte gelegene cellen moet verwijderd zijn.

Bij nauwkeurig onderzoek komt het echter niet zeldzaam voor dat men in gesloten cellen uit het inwendige van een rietstuk, dus op grooter afstand van de sneevlakte, 1 of meer dagen nadat het gekookt

werd, enkele bacterien vindt. Hier, evenals bij de overige pogingen om bacterien in gesloten cellen aan te toonen, moet men zorgvuldig te werk gaan en allereerst er voor zorgen dat van buiten af geen bacterien in de praeparaten komen hetgeen gemakkelijk zou kunnen gebeuren omdat bij de gebruikte stukken de sneevlakten met een laag bacterien en sporen bedekt zijn; deze zouden aanleiding tot groote vergissingen kunnen geven.

Om die redenen verwijderde ik van de te onderzoeken rietstukken in de eerste plaats aan alle zijden een laag van ongeveer 5 mM. dikte en spoelde de versche oppervlakte dan goed af in zuiver water. Daarna werd het stuk in absoluten alcohol gebracht, en bij het mikroskopisch onderzoek eerst middendoor gesneden, daarna weder afgewasschen, van de nieuwe sneevlakte de praeparaten gemaakt en deze dan nog in gefiltreerd water flink aan beide zijden afgepenseeld.

Herhaaldelijk heb ik bij op deze wijze behandelde doorsneden bacterien in geheel gesloten cellen aangetroffen, hoewel niet dan na veelvuldig zoeken. *T. Redjoeno* **3** werd daarvoor het meest gebruikt, en Fig. 6 geeft een schets van een cel uit een zeer jong internodium op enkele centimeters van den top van den stok gelegen. Aan den dunnen dwarswand bemerkt men dat de cel zich eerst kort geleden in twee deelen gedeeld heeft. In elk der helften kwamen staafjes voor, in de onderste slechts één, in de bovenste daarentegen een gebogen draad uit 4 staafjes bestaande. Ook in verschillende volwassen internodien van denzelfden stok, heb ik staafjes in bijna alle parenchymcellen aangetroffen, nu eens meerdere tegelijk, dan weder slechts enkele. De afmetingen van deze kwamen wederom geheel met die van *Bac. Sacchari* overeen. *Glaga* (van *Tjibodas* afkomstig) leverde mij ook een gunstig resultaat op, geheel daarmede overeenkomende.

Ook bij zaairiet kon ik bacterien constateeren, bij stukken 24 uur nadat zij gekookt waren, en wel in alle cellen welke tot op eenigen afstand van de sneevlakte gelegen waren. In het midden der stukken is het mij echter nog niet gelukt staafjes met zekerheid aan te toonen.

Nu wij zagen dat de bacterien ook te vinden zijn midden in rietstukken, 1 of meer dagen nadat deze toebereid werden, komen wij tot de laatste vraag:

Kan men deze organismen ook aantoonen in cellen van versch riet, of, wat hetzelfde is, in die van riet dat dadelijk na het afsnijden in absoluten alcohol gebracht werd?

Dat zij er in voorkomen, moet volgens al het bovengezegde waarschijnlijk klinken, maar hier bestaat een groot verschil tusschen de vraag of zij er voorkomen, en die, of men ze door mikroskopisch onderzoek alléén met zekerheid kan aantoonen.

Dit laatste nu is verre van gemakkelijk, want het blijkt reeds spoedig dat de bacterie in staafjesvorm in de versche cellen volstrekt niet algemeen zoo voorkomt. Dit nu kan veroorzaakt worden òf doordat de bacterie er inderdaad ontbreekt òf ook doordat zij er wel voorkomt maar als sporen in plaats van als staafjes. De moeielijkheid bestaat in het tweede geval daarin om de zekerheid te verkrijgen of de kleine korrels welke steeds in het protoplasma van de rietcellen, evenals ook in dat van andere planten voorkomen, behooren tot het protoplasma dan wel of het sporen zijn van onze bacterie. Zulke korrels, welke vrij sterk lichtbrekende eigenschappen kunnen bezitten, evenals bacteriensporen, vindt men in zeer vele rietcellen, soms zelfs in zoodanige groepeering, dat hierdoor tevens het denkbeeld, als zouden het sporen zijn, zeer versterkt wordt, maar daar verdere uitwendige kenmerken volkomen ontbreken is in deze gevallen eene definitieve beslissing door mikroskopisch onderzoek alléén niet te wachten. Cultuurproeven van die korrels in het inwendige der cellen, welke laatste daarbij natuurlijk onaangesneden moeten blijven, kunnen ons wel verder brengen, doch om meer dan één reden zijn deze niet te nemen, voordat de levensgeschiedenis onzer bacterien beter bekend is dan tot nu toe het geval is, vooral met betrekking tot haar leven in vloeistoffen. Om die reden heb ik dan ook deze cultuurproeven der bacterien in het inwendige der cellen voorloopig gestaakt.

In verschillende gevallen kon ik dus het mikroskopisch onderzoek niet verder voortzetten, niettegenstaande ik nagenoeg altijd in de cellen korrels waarnam welke zeer goed bacteriensporen konden zijn, en het misschien ook later zullen blijken geweest te zijn.

Een tweede middel om met bijna volkomen zekerheid bepaalde

bacterien of hunne sporen te midden van het protoplasma der cellen te herkennen, berust op het aanwenden van een zoodanige kleuringsmethode (met behulp van een der zeer talrijke anilinekleuren) door welke wel de bacterien, maar niet het celplasma of de celkern gekleurd wordt. Dergelijke methoden bestaan er reeds in aantal, maar aangezien deze nagenoeg voor alle bacterien verschillend zijn, zoowel als ook voor elk der weefsels waarin men ze wil aantoonen, zoo moet voor elk nieuw geval ook eene nieuwe methode gezocht worden. De meer algemeen bruikbare methoden van differentieele bacterienkleuring werden reeds op suikerriet beproefd doch zonder resultaat, zoodat ik nu nog bezig ben naar een wel toepasselijke kleuringsmethode te zoeken.

Slechts enkele rietstokken hebben mij echter toch zeer voldoende resultaten opgeleverd, daar ik in de versche cellen van dezen duidelijk staafjes kon waarnemen, welke dan steeds de afmetingen, meer bepaald de dikte, (daar de lengte nog al eens varieert) van onze *Bac. Sacchari* hadden.

In de eerste plaats vond ik de staafjes in het riet afkomstig van een bibitaanplant van een Chinees uit de omstreken van Buitenzorg (zie p. 26). In zeer vele parenchymcellen kwamen de bacterien als duidelijke staafjes, 3 à 4 maal langer dan breed, voor, veelal in gering aantal, doch niet zelden ook in vrij groote hoeveelheid. Het scheen mij toe dat in dit opzicht de cellen in de nabijheid der vaatbundels de bevoorrechte waren. In meerdere cellen meende ik ook staafjes te zien, waarin zich sporen gevormd hadden, en die dus eenigszins overeenkwamen met onze figuur 2. Zekerheid heb ik echter omtrent dit laatste niet kunnen verkrijgen, hoewel de overeenkomst inderdaad zeer groot was.

Eveneens trof ik ze zeer duidelijk aan in een zwaar sereh-zieken stok, afkomstig van onze eerste generatie van de bibit van D^r^. SOLTWEDEL, en ten slotte zag ik ze nog in den stok *zwart Borneo-riet* welke voor de filtratieproef gebruikt werd, waarover in de vorige Mededeeling, p. 25 en 26 gesproken werd. In internodium n°. 1 vooral kwamen in een aantal cellen duidelijke staafjes van ongeveer 0.7 mikron dikte voor, welke volkomen geleken op die van

Bac. Sacchari. In de meeste cellen waren één of zeer enkele staafjes aanwezig, doch eenige cellen daarentegen bevatten ze in grootere hoeveelheid. Fig. 7 geeft een schets van een zoodanige cel, waarin zich een groot aantal staafjes bevinden, die in afmetingen geheel overeenkomen met de bij dezelfde vergrooting geteekende figuren 6, 8 en 9.

Met het oog op de nog zoo weinige positieve resultaten is er natuurlijk nog niets te zeggen met het oog op het in meer of minder groot aantal voorkomen van bacterien in rietstokken van verschillende soort. Wel meen ik echter ze in de cellen van sereh-ziek riet menigvuldiger aangetroffen te hebben, terwijl bij de gewone cultuur van rietstukken, die welke afkomstig waren van *T. Tjeribon* zich steeds door zeer rijkelijke slijmvorming deden kennen. Staat dit laatste feit misschien ook in verband met de meerdere vatbaarheid die deze rietsoort schijnt te bezitten om sereh-ziek te worden?

Als aanvulling van het mikroskopisch onderzoek, en in vervolg op de waarneming dat slijmontwikkeling zich ook op onrijpe zaden van Mais vertoonde (zie pag. 29), heb ik getracht staafjes van *Bac. Sacchari* in de eicel, den embryozak en de cellen van de jonge kiem van deze plant te vinden. Gelukte dit, dan zou men daaruit de conclusie mogen trekken dat ook suikerrietzaad (hetgeen ik niet in de gelegenheid was te onderzoeken) waarschijnlijk diezelfde bacterien herbergde, omdat Mais en zaairiet zich met betrekking tot de slijmvorming volkomen overeenkomstig gedroegen.

Bij gebrek aan een voldoende kleuringsmethode, gelukte het mij ook hier niet overtuigende resultaten te verkrijgen, hoewel ik meen in meer dan één geval staafjes gezien te hebben in den embryozak, zoowel als in cellen van de kiem. In deze laatsten was het beeld het duidelijkst:

Het protoplasma was in die cellen zonder vormveranderingen gefixeerd (door absoluten alcohol) zoodat men duidelijk de nog centraal liggende kernen zag, waarvanuit vele protoplasmastroomen naar den celwand gingen. Te midden van deze stroompjes zag ik enkele malen staafvormige lichamen, die in afmetingen veel met die van *Bac. Sacchari* overeenkwamen; in één geval lagen er zelfs duidelijk twee achterelkander, zóó dat het indruk maakt alsof men hier een bacterie zag

die zich eerst kort geleden gedeeld had. In denzelfden stroom kwam een eind verder een tweede staafje voor. De gelijkenis van deze staafvormige lichaampjes met bacterien was zeer groot, doch ik was niet in de gelegenheid de identiteit van beiden aan te toonen.

Hoewel dus het mikroskopisch onderzoek nog verre van afgeloopen is, mag men echter op grond van de resultaten die het nu reeds opgeleverd heeft de verwachting koesteren dat de uitkomsten later bevestigd zullen worden, en dat men dus als algemeenen regel zal vinden dat er in elke, zelfs volkomen gezonde plant van suikerriet, even als in die van de overige *Saccharum*-soorten, zoowel als ook van andere *Gramineen*, een meer of minder groot aantal cellen voorkomen, waarin *Bac. Sacchari* te vinden is (hetzij in den vorm van sporen of als staafjes) en wel onafhankelijk van de wijze waarop de plant voortgekweekt werd, nl. of dit geschiedde door stekken dan wel door zaden.

Of men hetzelfde van *Bac. Glagae* verwachten mag is nog verre van zeker, daar deze zich niet constant in de cultures vertoonde, en zich dus geen vermoeden laat uitspreken omtrent het resultaat dat door volgende proeven opgeleverd zal worden.

Het voorkomen van *Bac. Sacchari* in het suikerriet en in de andere genoemde planten, zou men ook met andere woorden kunnen aanduiden door te zeggen dat deze bacterie in *symbiose* (samenleving) leeft met verschillende *Gramineen*-soorten.

In de levende natuur zijn talrijke gevallen bekend van symbiose tusschen de meest verschillende wezens, zoowel van planten met planten, als van dieren met dieren, als ook van planten met dieren. Het meest bekende voorbeeld vormen wel de korstmossen (*Lichenen*) welke zich wel is waar als geheel afzonderlijke planten voordoen, maar alle toch blijken te bestaan uit een wier en een schimmel (van de meest verschillende soorten) welke in symbiose leven.

De naam symbiose geeft men veelal in zulke gevallen waarbij beide organismen gelijkelijk voordeel trekken van de samenleving, zooals o. a. bij de korstmossen ongeveer het geval is, waar de wier voor voeding, de schimmel daarentegen voor beschutting zorgt, terwijl men andere

termen bezigt wanneer een der beide organismen in meerdere of mindere mate de bevoordeelde is. Evenwel zijn de overgangen tusschen al die gevallen zóó talrijk, en bovendien is het dikwijls zóó moeielijk de voor- en nadeelen van elk der samenstellende deelen naar waarde te schatten, dat men het woord symbiose veelal ook in den algemeenen zin gebruikt, voor de samenleving van organismen, zonder daarmede dus te willen te kennen geven of beide organismen, dan wel een van beiden voordeel heeft bij het compagnieschap.

Met het oog op het verband dat er bestaat tusschen het voorkomen der bacterien in het suikerriet en de sereh-ziekte, hebben ons de bovenbeschreven onderzoekingen het volgende geleerd:

Bac.Sacchari komt normaal in een aantal parenchymcellen voor. Tevens is het waarschijnlijk dat zij zich ook in de zeer jonge (meristeem-) cellen bij den top van eind-, zoowel als van zijknoppen bevinden (omdat op gekweekte stukken ook op zeer korten afstand van den top slijmdruppels te voorschijn kwamen). Dit leidt tot de onderstelling dat de bacterien zich in die jonge cellen vermenigvuldigen, meer of minder snel naar gelang van omstandigheden, en zich bij de volgende celdeelingen over de dochtercellen verdeelen, tengevolge waarvan zij ten slotte in een groot aantal volwassen parenchymcellen voorhanden zijn. Het is volstrekt niet noodig dat alle dochtercellen op die wijze met bacterien bedeeld worden, en zelfs is het waarschijnlijk dat bij langzame vermenigvuldiging den bacterien en krachtige celdeeling (dus ook bij krachtigen groei) vele en misschien wel de meeste cellen daarvan verstoken zullen blijven.

Wanneer toch in het meristeem-weefsel een nieuwe cel door deeling van een oudere ontstaan is, zoo blijft de eerste niet verder onveranderd, maar deelt zich op hare beurt na korter of langer tijd nog herhaaldelijk. Is nu een dezer nieuwe cellen met een of meer bacterien bedeeld geworden, terwijl deze in de aangrenzenden gemist worden, zoo zullen alle dochtercellen van de eerste bacterien kunnen bevatten, terwijl alle de omgegevende cellen van hen verstoken zullen zijn.

Op deze wijze ontstaat dus een groep van cellen, welke alle bacterien bevatten, te midden van een omgevend weefsel waarin deze ontbreken. Zoo kan dus op zeer eenvoudige wijze verklaard worden hoe

het komt dat cellen met bacterien dikwijls groepsgewijze voorkomen, een waarneming welke bij de hieronder te bespreken gele vlekken het duidelijkst zichtbaar is.

In de normale parenchymcellen gaat de ontwikkeling der bacterien langzaam voort, zóó dat zij voor het leven dier cellen wel niet in het minste schadelijk zijn. In sereh-zieke planten zelfs ziet men nooit verschijnselen welke op een zoodanige, direct schadelijke inwerking wijzen.

Eén uitzondering schijnt daarop voor te komen, en deze wordt gevormd door de gele of bruine vlekken welke men nu en dan midden in het merg van de internodien waarneemt, vooral bij gezond ontwikkelde planten, doch waarschijnlijk alleen omdat door de krachtige ontwikkeling van het merg bij dezen de gele vlekken meer opvallend zijn. Ik trof ze vooral in *T. Redjoeno* en *T. Tjeribon* uit de 2^{en} aanplant in den Plantentuin aan.

Deze vlekken, die tot 4 mM. ongeveer groot zijn, bestaan nl. uit een groep van een niet zeer groot aantal cellen, die alle geheel met een zéér korrelige massa gevuld zijn, welke laatste wel niet van mineralen aard is, daar zij in de gewone oplosmiddelen niet oplosbaar is en bij behandeling met Eau de Javelle zeer veel helderder wordt. Hoewel er mikroskopisch geen bacterien in te onderkennen zijn, vermoed ik toch dat deze korrels geheel of ten deele uit sporen van *Bac. Sacchari* bestaan, hetgeen ik bovendien uit de waarneming afleid dat, wanneer men een deel van den inhoud van zulke cellen brengt op gelatine-agar-bouillon of nog beter op aardappelschijfjes, zich op deze voedingsbodems de gewone staafjes van genoemde soort ontwikkelen, die bij aardappel bovendien tot de zeer kenbare, sterk gerimpelde kolonies uitgroeien.

In doorsneden van suikerrietmerg vindt men nu en dan een groep van cellen, te midden van normale cellen gelegen, geheel opgevuld zijn met bacterienstaafjes. Deze celgroepen konden met het bloote oog niet als gele vlekken herkend worden, maar het komt mij niet twijfelachtig voor dat men hier te doen heeft met zoodanige gele vlekken, die echter nog klein en jeugdig zijn.

Oude gele vlekken vindt men altijd omgeven door parenchymcellen

met normalen inhoud, doch wier wanden sterk verdikt zijn en duidelijke lagen en stippelkanalen vertoonen. Dikwijls vond ik ook de middenlamel van den wand iets gezwollen en de intercellulaire ruimten rondom geheel opgevuld ([1]).

Meer dan het afsterven van enkele parenchymcellen schijnen de bacterien bij die gele vlekken niet te bewerken, zoodat van een langzame verwoesting van het geheele omgevende weefsel, zooals dit bij andere plantenziekten die door bacterien veroorzaakt worden plaats heeft, hier geen sprake is, ten minste nooit nam ik een verschijnsel waar dat ook maar eenigszins tot dit vermoeden zou kunnen leiden.

Doen dus deze bacterien geen direct kwaad van beteekenis zoolang zij in de cellen huizen, de gegevens in mijne vorige Mededeeling bevat wijzen er op dat dit daarentegen wel plaats heeft wanneer zij in de vaten komen en zich daar zóó krachtig ontwikkelen dat de door hen gevormde slijmmassa's de vaten geheel of ten deele verstoppen en zoo de wateraanvoer door de wortels naar de bladeren belemmeren, meer of minder naar gelang van omstandigheden.

In de vaten kunnen de bacterien zeer gemakkelijk geraken, in de eerste plaats tengevolge van het bibitsnijden, wanneer enkele dezer medegevoerd worden van een der doórgesnedene cellen waarin zij voorkwamen en in de opening van een doorgesneden vat vastgehouden worden. Het zal dan van vele andere omstandigheden afhangen of deze bacterien nu ook door verdere ontwikkeling en verspreiding in de overige vaten, schade kunnen doen aan de plant.

De bacterien kunnen echter ook langs een meer natuurlijken weg in de vaten geraken en wel van uit de jonge vaatcellen. Zijn er nl. bij de celdeeling in het meristeem en door de ontwikkkeling van staafjes in enkele der cellen, eenige bacterien juist in die cellen gekomen, welke bestemd zijn om later door samensmelting vaten te vormen,

---

([1]) Het schijnt mij toe dat wandverdikking het middel is dat door de cellen van het suikerriet te baat genomen wordt om tot het sluiten van wonden te geraken, op dezelfde wijze als vele andere planten o. a. kurk vormen. Ik zag ten minste dergelijke cellen eveneens rondom de boordergaten welke zich bevonden in het riet, afkomstig van Midden-Sumatra.

(hetgeen geschiedt doordat de dwarswanden der cellen opgelost worden en de inhoud daarbij afsterft) zoo zijn de bacterien op die wijze ook zonder eenige verwonding hoegenaamd in de vaten gekomen; is dit eenmaal geschied dan hangt het wederom van nog onbekende omstandigheden af, of deze bacterien zich krachtig zullen ontwikkelen en de vaten verstoppen, dan wel of zij zich slechts langzaam vermenigvuldigen, en dan in niets het normale leven der plant verstoren zullen.

Of *Bac. Glagae,* evenals *Bac. Sacchari,* in staat is dergelijke gele vlekken, bestaande uit afgestorven cellen, te vormen, of door massa-ontwikkeling de vaten te verstoppen (daar deze bacterien veel minder slijm vormen dan *Bac. Sacchari* zal dit wel niet zoo spoedig plaats kunnen hebben) en zoo tot sereh-verschijnselen aanleiding te geven is mij nog onbekend. Moest ik eene conclusie trekken uit de gegevens mij tot nu toe bekend, zoo zoude ik ontkennend moeten antwoorden, daar mij geen enkel feit bekend is, dat ook maar eenigszins op een dergelijke meening duidt. Evenwel moet hier de uitkomst van nader onderzoek afgewacht worden.

Leeft dus *Bac. Glagae* in symbiose met enkele rietplanten zonder deze ooit schade te doen? dan is deze symbiose van veel onschuldiger aard dan die met *Bac. Sacchari,* daar deze laatste onder bepaalde omstandigheden de voedsterplant ernstig benadeelen kan. In het algemeen is een zoodanige symbiose een overgangsvorm tot parasitisme, maar met dien naam zoude men dit geval eigenlijk minder goed kunnen bestempelen, omdat bij parasitisme veelal de schade aan de voedsterplant veroorzaakt op groote voedselonttrekking berust waardoor de voedsterplant zeer verzwakt wordt. Anders is het echter bij de serehziekte, daar bij deze de schade van indirecten aard is, omdat niet het onttrekken van voedsel de plant benadeelt, maar omdat een der organen van de plant (dienende voor de waterbeweging) in de uitoefening harer functiën meer of minder gestoord wordt, terwijl de schadelijke gevolgen welke de voedsterplant ondervindt het directe gevolg zijn van deze belemmeringen, dus slechts indirect aan de werking bacterien toegeschreven kan worden. Deze doen dus als het ware niet van nature de plant kwaad, doch slechts wanneer toevallige omstandigheden daartoe mede werken.



Hebben wij uit de waarnemingen in de vorige Mededeeling vervat, gemeend te moeten afleiden dat *Bac. Sacchari* aanleiding kan geven tot het optreden van sereh-verschijnselen aan de rietplant, wanneer zij zich in de vaten sterk vermenigvuldigt en aldaar veel slijm vormt, zoo moet deze voorstelling van de verhouding tusschen rietplant en bacterie een uitbreiding ondergaan, vooral met het oog op de beschouwing der sereh-ziekte als infectieziekte, nu wij gezien hebben dat de bacterien normaal in de cellen van alle rietstokken voorkomen.

Daar er echter nog veel te weinig bizonderheden bekend zijn omtrent de rol die elk der beide organismen bij de symbiose speelt, moet ik mij er toe bepalen slechts in het kort op enkele hoofdpunten te wijzen.

Onder infectie verstaat men gewoonlijk het overgaan in een zekere plant of in een zeker dier van een levend (parasitisch) organisme dat vroeger daarin niet voorkwam.

In dien zin gebruikt zou elke rietplant steeds, sedert eeuwen waarschijnlijk, met den veroorzaker der sereh-ziekte geinfecteerd zijn, daar zij ter allen tijde de kiemen bevat en misschien bevat heeft, welke onder bepaalde omstandigheden de sereh-ziekte kunnen doen ontstaan.

Hieruit zou men mogen afleiden dat waarschijnlijk wel vroeger altijd hier en daar een enkele maal sereh-zieke planten opgetreden zijn, zonder echter veelal noemenswaardige schade aan den aanplant toe te brengen. Dit schijnt overeen te komen met de ervaringen van planters op Java vóór 1883 opgedaan.

Men moet echter een scherp onderscheid maken tusschen het optreden van eenige sereh-planten en eene sereh-epidemie, want als zoodanig vertoonde zich deze in de jaren na 1883 ([1]), omdat toen eerstens zeer spoedig het aantal zieke planten in hooge mate toenam, maar tevens omdat de verspreiding der ziekte over Java geheel het karakter droeg dan men o. a. bij de uitbreiding van epidemische ziekten in het algemeen waarneemt.

([1]) Een dergelijk epidemisch uitbreken der sereh-ziekte schijnt ook b.v. een twintigtal jaren geleden in de Straits plaats gehad te hebben.

Hoe is het echter mogelijk, zal men vragen, dat een epidemie zich uitbreidt zonder dat eigenlijke infectie plaats behoeft te hebben, omdat volgens onze voorstelling, elke rietplant reeds, als van nature, geinfecteerd is?

Het is wel waarschijnlijk dat de oorzaak van dit epidemisch optreden, niet hoofdzakelijk althans, kan worden toegeschreven aan verandering in eigenschappen van de rietplant zelve, doch meer waarschijnlijk is het dat eene wijziging in de eigenschappen der bacterien daarbij een belangrijke rol speelt.

Neemt men hierbij in aanmerking dat in bepaalde gevallen cultures geleerd hebben dat bij voortgezette kweeking de oorspronkelijke eigenschappen van bacterien eene dikwijls ingrijpende wijziging kunnen ondergaan, zoo is het volstrekt niet onmogelijk dat iets dergelijks met de sereh-bacterie kan gebeurd zijn.

Is dit inderdaad het geval dan wordt men echter voor de niet minder lastige vraag gesteld:

Zijn het de normaal reeds in het riet voorkomende bacterien welke tijdens eene epidemie tot het optreden der sereh-verschijnselen medewerken, of is het noodig dat daartoe eerst een, als het ware meer schadelijke vorm van dezelfde bacterie in de plant binnendrong, en moest dus als het ware de plant opnieuw geinfecteerd worden?

De tot heden verkregen gegevens laten nog zelfs niet vermoeden hoe het antwoord op deze vraag zou kunnen uitvallen, zoodat daartoe de resultaten van verdere onderzoekingen moeten afgewacht worden.

Blijkt uit het voorgaande wel voldoende dat men er niet aan kan te denken de rietplanten geheel te bevrijden van den veroorzaker der sereh-ziekte, zoo behoeft hare aanwezigheid in alle riet daarom nog niet zóó hevig te verontrusten dat men alle hoop zou moeten opgeven om de sereh-ziekte met gunstig gevolg te bestrijden. Zelfs is er geen reden om te meenen dat het voorkomen der bacterien in de cellen minder kans oplevert voor eene bestrijding der ziekte dan wanneer gene in de vaten alléén voorkwamen.

Hierbij moet men ook niet vergeten dat niettegenstaande elke rietplant bacterien herbergt, er toch nog elk jaar op Java alleen reeds

zich millioenen stokken volkomen normaal ontwikkelen, terwijl andere *Gramineën,* in welke toch ook die bacterien voorkomen, nog nooit verschijnselen van sereh-ziekte hebben vertoond, ten minste voor zoover mij bekend is.

In de cellen waarin de bacterien huizen vinden deze wel is waar alle bestanddeelen welke zij voor hunne ontwikkeling behoeven, maar tevens komen daar andere stoffen voor, welke hunnen groei moeten tegengaan. Onder deze laatste noem ik de zuren, welke in alle, vooral in groeiende plantencellen, dikwijls in vrij groote hoeveelheid voorkomen; op den groei der meeste bacterien werkt de aanwezigheid van zuur zeer belemmerend, zoodat dit ook in de cellen grooten invloed kan uitoefenen.

Misschien komen ook nog andere dergelijke bestanddeelen in de cellen voor welke eveneens den groei der bacterien vertragen, of zelfs kan het misschien gelukken vreemde stoffen van buiten af in de cellen te brengen (door middel van de wortels) welke deze zelfde uitwerking hebben, zonder de plant noemenswaard te schaden.

Het is zeer goed mogelijk dat koperzouten hier de gewenschte uitwerking hebben omdat het bekend is dat deze zelfs in zwakke oplossingen vertragend op de ontwikkeling der bacterien inwerken.

Gelukt het nu bijv. door het bemesten van den bodem met kopersulphaat (1) om zooveel van het koperzout in de cellen te brengen dat de vermenigvuldiging der bacterien er door vertraagd wordt, zoo zullen er minder cellen zijn welke met bacterien bedeeld kunnen worden, dan zal daardoor geringer kans ontstaan dat deze òf direct in de vaten komen, òf ook daarin bij het snijden van bibit geraken, en zoo zou dan de kans op een schadelijken invloed op de ontwikkeling der nieuwe plant geringer worden. Bij deze proeven moet men echter niet uit het oog verliezen dat de relatieve vermindering van het

(1) Waarschijnlijk zal het blijken dat het daartoe noodig is het kopersulphaat in stukken door den grond heen te werken, in plaats van den bodem met een oplossing te begieten, en wel om dezelfde reden als waarom men op die wijze ijzersulphaat moet aanwenden om de chlorose van planten te bestrijden (vergel. daarvoor *Teijsmannia*, I, n°. 8, p. 465).

aantal bacterien in de rietplant, mogelijk slechts zeer langzaam plaats heeft, zoodat het nuttig effect dezer proeven misschien eerst in de tweede of derde generatie begint op te treden, omdat bij deze de oogen der bibits zich geheel onder den invloed der koperbemesting tot rietstokken ontwikkeld hebben.

Er is echter meer. Vele planters trachten bibit te verkrijgen van aanplantingen welke in hoogere streken, en in een vochtiger klimaat gelegen zijn omdat, zooals de ervaring geleerd heeft, zich daar het riet steeds flink ontwikkelt. Van de bibit van deze beter gevormde stokken blijkt men een beteren aanplant te verkrijgen.

Waaraan is het nu toe te schrijven dat deze wijze van handelen zulke goede resultaten oplevert?

Voor deze uitkomst meen ik drie redenen te kunnen vinden, van welke mogelijk of één alleen of meerdere te samen werken; deze zijn:

1°. een versnelde groei der rietstokken waarvan het gevolg kan zijn dat bij de sneller opvolgende celdeelingen een geringer aantal cellen met bacterien bedeeld worden;

2°. een versterking van de plant in het algemeen waardoor de cellen beter aan mogelijke schadelijke inwerking der bacterien kunnen weerstand bieden; en

3°. een verzwakking van de groeikracht of van de virulentie van de bacterien bij krachtig groeiende stokken, waardoor zij minder gevaarlijk worden voor de rietplanten.

Of en in hoeverre elk van deze redenen medewerkt, is nog volstrekt onbekend, doch de praktijk heeft reeds aangetoond dat door de cultuur in hoogere, vochtiger streken een verandering in de rietplant of in de bacterien of in beiden veroorzaakt moet worden.

Volgens het bovenstaande zou men verder mogen verwachten dat bibit afkomstig van een aanplant welke sedert meerdere generaties aanhoudend in zulke hoogere, vochtiger streken gekweekt werd nog beter en duurzamer goede resultaten zal geven, dan die welke slechts één enkele generatie aldaar geleefd heeft, omdat zij dan langer aan de inwerking der meer gunstige factoren is blootgesteld geweest.

Ben ik nu genoodzaakt geweest in deze Mededeeling het weinig bemoedigend schijnende feit te moeten vermelden, dat er zoo goed als geen kans bestaat om de rietplanten van hunne vijanden, de veroorzakers der serehziekte te bevrijden, zoo hoop ik toch dat er tevens gegevens in gevonden worden, welke meerdere bekendheid met den vijand verschaffende, zijne bestrijding gemakkelijker zullen maken.

29 April 1891.

NASCHRIFT.

Gedurende het afdrukken van het bovenstaande werden de onderzoekingen voortgezet, en wel meer bepaald met het oog op het voorkomen van bacterien in andere planten, niet *Gramineeën.* Geheel op dezelfde wijze behandeld als gewoonlijk met de rietstukken geschiedde, trad onder de Monocotylen slijm met *Bac. Sacchari* op bij *Amomum* spec., *Cyperus papyrus*, *Chamaedorea Karwinskiana* en *Typha javanica* terwijl *Arundina* spec., *Billbergia* spec. en 2 soorten van *Pinanga* niets vertoonden; dat o. a. deze laatsten echter toch een goeden voedingsbodem voor bacterien opleverden, bleek uit het optreden van het slijm 1 dag nadat de stukken met *Bac. Sacchari* ingeënt waren.

Bij de 4 daarna onderzochte Dicotylen werd steeds *Bac. Sacchari* aangetroffen, en wel bij den aardappel, de amandelen (3 stuks) op den rooden biet en ten slotte op den bloemstengel, zoowel als op blad- en bloemsteel van *Spathodea campanulata.* Op aardappel, maar vooral op biet ontwikkelde zij zich zeer overvloedig, zoodat na 2 dagen de oppervlakten van alle bietschijven geheel bedekt waren met dezelfde sterk gerimpelde massa, als die welke voor aardappel beschreven werd (p. 19); op aardappelschijven kwam bovendien wederom ook *Bac. Glagae* voor den dag.

Het geval van *Spathodea* is daarom te merkwaardiger omdat Dr. Treub (1) in het vocht, dat door de kelkbladeren der jonge bloemknoppen omsloten wordt, komma-vormige bacterien waargenomen heeft welke volstrekt niet op *Bac. Sacchari* gelijken, en zich ook in cultures geheel anders gedragen.

---

(1) Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg, T. VIII.

Intusschen zijn deze resultaten nog slechts losse feiten welke nader onderzocht moeten worden.

Ten slotte kan ik met genoegen vermelden dat D[r]. VALETON mij toegestaan heeft alhier reeds mede te deelen dat hij bij zijne laatste onderzoekingen te Pasoeroean, mijne resultaten ten volle bevestigd heeft bevonden, zooals uit een publicatie van zijne hand, welke zeer spoedig verschijnt, blijken zal.

VERKLARING VAN DE PLAAT.

Alle teekeningen zijn vervaardigd met behulp van het teekenprisma, met uitzondering van Fig. 15 en 16 welke gephotographeerd zijn. De getallen hieronder opgegeven duiden de vergrooting in teekening aan.

FIG. 1—10. BACILLUS SACCHARI.

Fig. 1. Gewone vorm der staafjes; 830.

» 2. Staafjes waarin zich sporen vormen; 830.

» 3. Rijpe sporen; 830.

» 4. Lange draden, geheel uit staafjes van den gewonen vorm bestaande; 830.

» 5. Zeer lange draden, van welke niet zichtbaar was dat zij in staafjes verdeeld waren; 830.

» 6. Een geheel gesloten cel, afkomstig uit een internodium van een stok *T. Redjoeno* 3 uit de nabijheid van den top, 24 uur nadat het stuk riet gekookt was. De cel had zich eerst kort te voren in tweeën gedeeld, en de eene dochtercel bevatte 4, de andere slechts 1 bacterienstaafje, de eersten nog tot een gebogen draad verbonden; 350.

» 7. Een cel uit internodium n°. 1 afkomstig van den stok *Zwart Borneo-riet* welke gebruikt werd voor de filtratie-proef, (zie vorige Mededeeling p. 25 en 26); 350.

» 8. Gedeelte van een overlangsche doorsnede door een vaatbundel uit internodium n°. 2 van denzelfden stok als van Fig. 7. In de beide, versmolten ringvaten ziet men een zeer groot aantal vrij liggende staafjes, benevens een kolonie van dezen aan een der ringen vastgehecht; 350.

Fig 9. Een der groote vaten uit een dwarsche doorsnede van hetzelfde internodium; het vat is door een band van slijm, waarin vele bacterien zichtbaar zijn, in twee deelen gedeeld; 350.

» 10. Enkele staafjes uit slijm van Fig. 9; 830.

FIG. 11—14. BACILLUS GLAGAE.

Fig. 11. Gewone vorm der staafjes; 830.

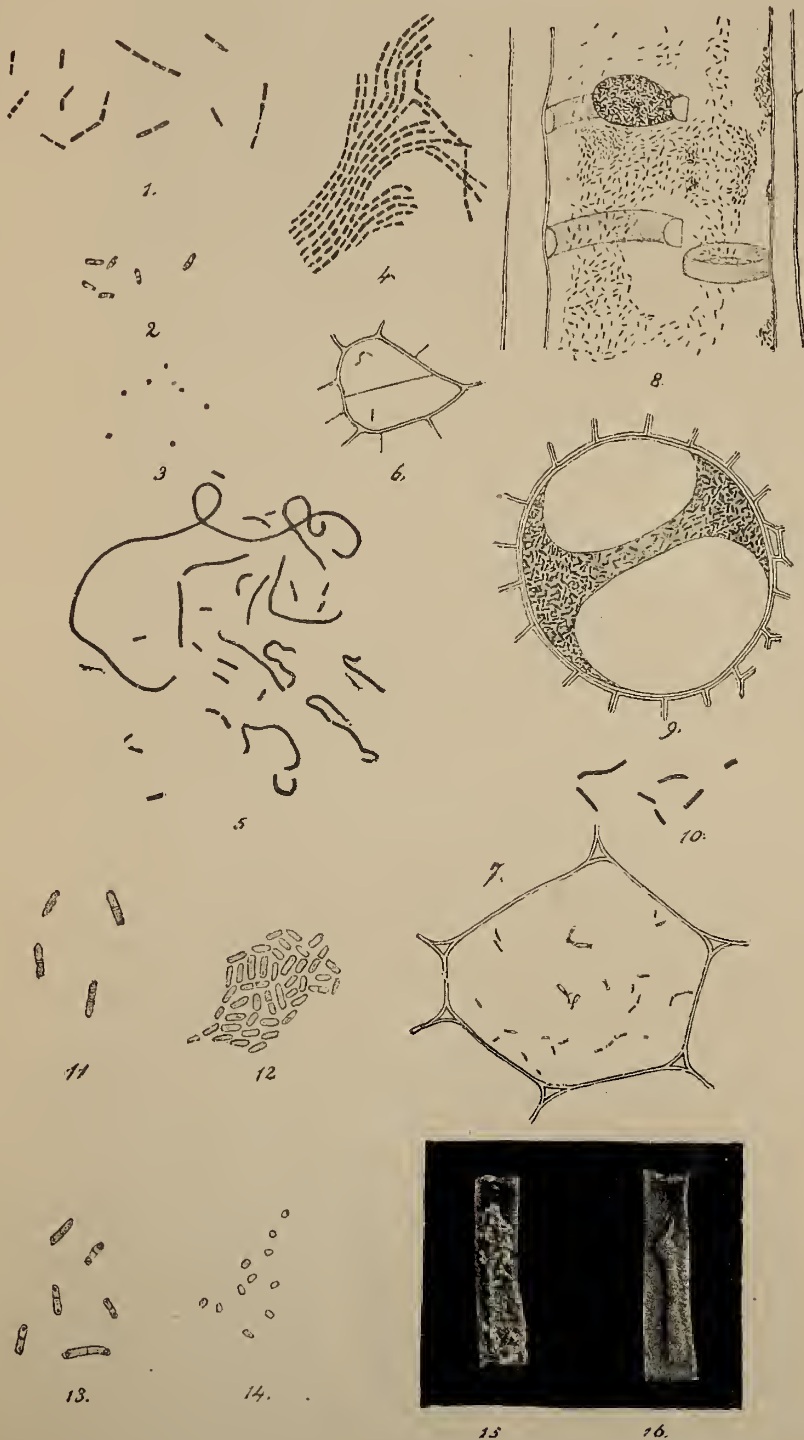
» 12. Staafjes uit een slijmkolonie in hunne onderlinge ligging; 830.

» 13. Staafjes waarin zich sporen vormen; 830.

» 14. Rijpe sporen; 830.

» 15. Cultuur van *Bac. Sacchari* op schijfje aardappel, gephotographeerd 1 dag na de inenting. Natuurl. grootte.

» 16. Cultuur van *Bac. Glagae* op schijfje aardappel, gephotographeerd 1 dag na de inenting. Natuurl. grootte.



J. M. J. del.

C. L. sc.